Année scolaire
1954

THÈSE

N° 4

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

PAR

Claude GUICHARD

DOCTEUR ÈS SCIENCES
PHARMACIEN
ASSISTANT A LA FACULTÉ DES SCIENCES
INTERNE ET LAURÉAT DES HÔPITAUX
LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Né à Sainte-Foy-la-Grande (Gironde), le 11 Novembre 1928.

1° — Thèse : CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA NATURE ET DE L'ÉVOLUTION DES ACIDES ORGANIQUES DANS DIVERSES PLANTES A FRUITS COMESTIBLES.

2° — QUESTION PROPOSÉE PAR LA FACULTÉ : LES JUS DE FRUITS. — RÔLE DANS L'ALIMENTATION ET LA THÉRAPEUTIQUE.

Soutenue le Mercredi 3 Février 1954 devant la Commission d'examen.

MM. VITTE, professeur..... *Président*
CASTAGNOU, professeur.....
TAYEAU, professeur..... *Juges*
GÉNEVOIS, professeur à la Faculté des Sciences....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1955

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547308_0056

Année scolaire
1954

THÈSE

N° 3

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

PAR

Claude GUICHARD

DOCTEUR ÈS SCIENCES
PHARMACIEN
ASSISTANT A LA FACULTÉ DES SCIENCES
INTERNE ET LAURÉAT DES HÔPITAUX
LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Né à Sainte-Foy-la-Grande (Gironde), le 11 Novembre 1928.

1° — **Thèse** : CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA NATURE ET DE L'ÉVOLUTION DES ACIDES ORGANIQUES DANS DIVERSES PLANTES A FRUITS COMESTIBLES.

2° — QUESTION PROPOSÉE PAR LA FACULTÉ : LES JUS DE FRUITS. — RÔLE DANS L'ALIMENTATION ET LA THÉRAPEUTIQUE.

Soutenue le Mercredi 3 Février 1954 devant la Commission d'examen.

MM. VITTE, professeur. ..... *Président*
CASTAGNOU, professeur. ..... } *Juges*
TAYEAU, professeur. ..... } *Juges*
GÉNEVOIS, professeur à la Faculté des Sciences ... } *Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1955

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPLAY, CHELLET

DOYEN : M. PORTMANN. — ASSESSEUR : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	CREYX / BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN
Clinique d'accouchements	MASSÉ
Clinique gynécologique	RIVIÈRE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	MAGENDIE
Anatomie	DE GRAILLY
Anatomie générale et histologie	DUFOUR
Hygiène et Clinique de la tuberculose	MAYER
Médecine légale et médecine au travail	PIÉCHAUD
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	DERVILLÉE
Chimie	REBOUL
Matière médicale	MESNARD
Pharmacie	GOLSE
Physiologie	VITTE
Clinique médicale des maladies des enfants	FABRE
Zoologie et parasitologie	FONTAN
	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	F.-J.TRAISSAC
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie), Mlle ROUGIER (Physiologie), M. MOUSTARDIER (Bactériologie)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Anatomie pathologique	LÉGER
Anatomie	RIGAUD
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE

	MM.
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER / QUILICHINI
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ :

M. STOLL (Histologie)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN / LENG-LÉVY / MORETTI / LAVIGNOLLE
Chirurgie générale	LAUMONIER / CHAVANNAZ / VILLAR / TINGAUD / DEPAULIS
Obstétrique	CHASTRUSSE / FAUGÈRE

	MM.
Ophtalmologie	BESSIÈRE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER / PÉRY
Législation pharmaceutique	COUSTOU
Anatomie	CABANIÉ
Cryptogamie	LAUBIE
Obstétricie sociale	MAHON

	MM.
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER / VILLAR
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	BENELLI
Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBAU

Le Secrétaire principal de la Faculté : GAYRAUD

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R.UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA FEMME

A MES GRANDS-PARENTS

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

AUX MIENS

A MES AMIS

A NOS MAITRES

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. VITTE

PROFESSEUR DE PHARMACIE

PHARMACIEN DES HÔPITAUX

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Nouveau témoignage d'estime et de reconnaissance.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA NATURE ET DE L'ÉVOLUTION DES ACIDES ORGANIQUES DANS DIVERSES PLANTES A FRUITS COMESTIBLES

INTRODUCTION

Les fruits représentent des milieux biologiques complexes dans lesquels, à un moment donné, il s'effectue simultanément de multiples transformations. Le fruit est un organe en perpétuelle évolution; celle-ci est régie essentiellement par le fonctionnement foliaire, qui dépend de multiples facteurs, parmi lesquels l'espèce et la variété de l'arbre fruitier, l'origine et les facteurs climatériques occupent une place prépondérante. La multiplicité de ces transformations entraîne une grande variété dans la nature des constituants chimiques des fruits et des feuilles. Les substances les plus diverses se côtoient et évoluent parallèlement; elles sont le résultat ou, au contraire, assurent le fonctionnement physiologique de la plante et concourent à son évolution. C'est la connaissance de ces phénomènes biochimiques qui permet de mieux connaître et d'expliquer ces transformations morphologiques, d'en saisir le mécanisme et d'en prévoir les conséquences.

Parmi ces constituants, les substances acides occupent une place prépondérante. Elles prennent naissance dans les cellules végétales au cours de divers phénomènes. Leur origine est mal connue. Elles semblent cependant venir des feuilles, siège des transformations du métabolisme de la plante. Le phénomène qui semble présider à leur formation est la respiration. Mais à côté de ces réactions de

dégradation, on sait actuellement que certains acides prennent naissance au cours de la photo-synthèse.

Pour saisir l'évolution des acides organiques dans la plante, il ne faut pas s'en tenir, comme l'ont fait la plupart des auteurs, à l'étude de la nature et des variations de ces acides dans le fruit en cours de développement. Ces variations ne sont qu'une image plus ou moins fidèle de l'évolution réelle, que l'on trouve dans la feuille. Le véritable problème nous a donc paru résider dans l'étude de ces acides dans ces deux organes. Cette étude a été menée parallèlement, de façon à pouvoir comparer, à chaque instant de l'évolution, les compositions de la feuille et du fruit. Cette confrontation pouvait nous donner les précisions cherchées, tant sur l'origine que sur le devenir des substances acides formées. Notre étude devait porter non pas seulement sur l'évolution des acides au cours de la maturation, ainsi que l'ont fait de nombreux auteurs, mais aussi au cours de la formation et du développement de ces fruits. La maturation des fruits, si elle constitue un phénomène important, ne représente que l'aboutissement de l'évolution biochimique de la plante. Elle est précédée de phénomènes qui la commandent et la régissent; c'est tout d'abord le développement de ces fruits, et il est étonnant que l'on se soit désintéressé de la nature et des variations de ces acides au cours de celui-ci, en rapport direct avec les phénomènes physiologiques qui se passent dans la feuille. L'étude que nous nous proposons englobe donc un vaste domaine. Elle a pour but de contribuer à l'éclaircissement des modifications biochimiques de la plante, par l'apport de données nouvelles concernant les substances acides de celle-ci. *Nous nous proposons de définir la nature et les proportions respectives des substances acides dans les feuilles et les fruits de divers arbres fruitiers, d'en saisir les variations et les transformations au cours de leur développement par leur étude à des moments cruciaux du cycle végétatif.*

Avant d'entreprendre une telle étude, il nous fallait avoir en mains une technique de recherche et de dosage des acides organiques, rapide, relativement sensible et surtout spécifique. Les méthodes chimiques courantes ont très longtemps manqué de spécificité et de rapidité. Peynaud [1] en a fait une étude critique et constructive; il a donné pour divers acides, en particulier pour l'acide malique, des méthodes de dosages sensibles, quoique non spécifiques, mais qui sont longues et délicates. De telles techniques ne permettent que de doser tel ou tel acide particulier. Ce n'est que le dosage de nombreux acides par les techniques appropriées et la constitution de bilans acidimétriques qui peut permettre de s'assurer que toutes les substances acides de l'organe étudié ont bien été mises en évidence.

Nous avons cherché à mettre au point une technique qui permette en même temps et sûrement la détection et, le cas échéant, le dosage de toutes les substances acides. En effet, il est incomplet de s'arrêter au dosage des acides organiques courants, facilement dosables et caractérisables, car la complexité des mécanismes biochimiques de la plante nous assure d'une diversité très grande dans la nature de ces acides. Notre technique, basée sur les principes chromatographiques, ne prétend pas pouvoir caractériser toutes ces substances; du moins elle permet de les déceler, de les signaler et d'apporter des éléments qui contribueront à leur caractérisation.

HISTORIQUE

La littérature scientifique n'abonde pas de travaux sur la nature et les proportions des acides des végétaux. Seuls les fruits ont donné lieu à des recherches portant sur leur maturation et les évolutions biologiques qui en découlent; au cours de ces évolutions, l'apparition et la disparition des acides jouent un rôle important; l'étude des acides des feuilles, laboratoires où ils sont fabriqués, ne semble pas avoir intéressé les chercheurs, peut-être, comme nous le verrons, parce que les résultats trouvés par la méthode classique de recherche de quelques acides bien définis ne donnaient pas satisfaction; les bilans, dans ces cas là, n'étaient pas équilibrés. Parmi les fruits, le raisin et la pomme, par leur importance dans les industries du vin et de la cidrerie, ont vu leur composition soigneusement détaillée; les autres, tels les poires, les pêches, les prunes, ont donné lieu à quelques travaux; certains fruits ont été laissés de côté.

Gerber [3], en 1897, s'est surtout intéressé à l'origine des acides des fruits d'une façon générale. Il a montré qu'ils semblent être partiellement utilisés à la formation des hydrates de carbone.

En 1901, Truchon et Martin Claude [4] trouvent de l'acide tartrique dans les prunes.

Quelques années plus tard, en 1908, Chauvin, Joulin et Canu [5], par contre, ne trouvent que de l'acide citrique et sont en contradiction avec les travaux précédents.

Muttelet [6], en 1909, étudie l'acidité des jus de fruits. Il montre que les cerises contiennent uniquement de l'acide malique (1,61 g pour 100 g de jus de la variété de Montmorency). Par contre, ne contiennent que de l'acide citrique, les fraises (1,18 g pour 100 g de jus), les framboises (2,12 g pour 100 g de jus), les groseilles (2,08 g pour 100 g de jus), les cassis (3,50 g pour 100 g de jus). Ces derniers contiendraient également des traces non dosables d'acide tartrique. Cet auteur veut montrer par cette étude que l'acidité totale n'est pas suffisante, mais qu'il faut établir la nature de cette acidité, par la détermination des acides qui la provoquent.

La même année, Kunz et Adam [7] étudient les acides organiques des pêches. Ils trouvent que l'acide citrique constitue seul l'acidité.

En 1915, Demoussy [8] montre que chez les végétaux les substances simples comme les acides sont localisées dans des cellules spéciales; les liquides d'écoulement par pression successive ont des acidités variables ; l'auteur exprime toutes ces acidités en acide malique.

En 1916, Baragiola [9] fait des travaux sur l'acidité des poires et des pommes. Poursuivis en 1917, en collaboration avec Kléber [10], il note seulement la présence d'acide malique dans ces fruits. Dans ses travaux sur les cidres et les poirés suisses, il ne mentionne pas l'acide citrique et affirme qu'il l'a recherché en vain.

La même année Biguelow et Dumbar [12] recherchent les acides organiques des pêches et des prunes. Dans ces fruits ils mettent en évidence uniquement de l'acide malique.

Magness [11], en 1920, a observé que l'acidité des poires était sujette à des variations importantes, sans définir la nature de cette acidité.

Muttelet [6], dans de nombreux travaux, en 1922, étudie les acides des fruits à confitures. Dans les prunes il montre la présence exclusive d'acide malique. Par

contre, les pêches contiendraient de l'acide malique et de l'acide citrique. Il y aurait une fois et demi plus d'acide citrique que d'acide malique.

Magness et Diehl, [13] poursuivant leur étude sur l'acidité des fruits, montrent qu'au cours de la maturation il y a chute de l'acidité. Ils confirment les travaux plus anciens de Biguelow, Gore et Howard [14], Brown [15], Frémy [16] et Couverchel [17].

Pour Archold [18], la teneur en acides libres croît progressivement dans la jeune pomme en cours de développement ; ceci est en accord avec les travaux de Girard et Lindet [19], qui avaient montré que le même phénomène se produisait dans la baie de raisin.

Par la suite, Nelson [20] estime que l'acidité totale correspond dans la fraise à de l'acide citrique (90 p. 100) et à de l'acide malique (10 p. 100), dans les framboises rouges à 97 p. 100 d'acide citrique et à 3 p. 100 d'acide malique, dans l'ananas aux mêmes acides dans les proportions de 87 contre 13. Par contre, dans la pêche, les acides malique et citrique seraient en quantité à peu près égales. Cet auteur a trouvé également de l'acide isocitrique dans la mûre de ronce.

A la même époque, Franzin et Helwert [21] signalent dans un moût de pommes, à côté de l'acide malique, les acides citrique, lactique et succinique.

Un peu plus tard, en 1928, Warcollier [22] indique uniquement de l'acide malique dans les pommes à cidre françaises, de même que dans les poires.

Niethammer [23] trouve dans les groseilles à maquereau non mûres, de l'acide succinique. Il indique également l'existence d'acide oxalique libre dans des fruits peu connus, balimbas et caramboles; cet acide serait très fréquent sous forme d'oxalates, particulièrement d'oxalate de calcium, surtout dans les fruits jeunes. Il se raréfierait au cours de la maturation.

Peynaud [1], en 1946, publia des résultats très précis

sur l'acidité des jus de raisins, la nature des acides et leurs proportions respectives. Cet auteur mit au point les méthodes classiques de dosage des divers acides, en particulier les acides tartrique, citrique et malique. D'après lui, il n'existait pas de dosages précis, obtenus à l'aide de méthodes directes et spécifiques, présentés sous forme de bilans acidimétriques montrant que tous les acides ont été dosés, qui portent sur les différents acides aux divers stades de l'évolution. Il établit de tels bilans. Mais il s'occupe uniquement de la maturation du fruit, et néglige la période de grossissement de la baie et de formation des acides organiques. Il indique ses résultats sous forme de bilans acidimétriques et de bilans physicochimiques, qui donnent le pourcentage des fonctions libres et neutralisées de chacun des acides organiques. L'écart des bilans ne dépassant pas 5 p. 100 et étant donné, d'après l'auteur, l'exactitude des techniques de dosage, on peut admettre que les acides tartrique, citrique et malique représentent la totalité des acides présents. D'ailleurs, la recherche directe ne lui a pas permis de caractériser les acides oxalique, succinique, glycolique et glyoxylique. D'après l'auteur, certains pourraient contenir de petites quantités d'acide succinique.

Les acides viendraient de la feuille où ils sont élaborés et partiellement salifiés, migreraient vers le grain en solution diluée. Ils subiraient une combustion par le ferment respiratoire des cellules du raisin. L'acide tartrique varie peu ; il diminue seulement en période de sécheresse et de grande chaleur. L'acide citrique, qui n'existe qu'à petites doses, varie peu ; il est particulièrement résistant aux ferments respiratoires ; c'est l'acide malique qui est essentiellement brûlé au cours de la maturation. Chez le Malbec, par exemple, il passe de 337 méq à la véraison, à 72,6 méq par litre de jus à maturité. Chez le Sémillon, la chute va de 218 méq à 16,9 méq par litre de jus. Dans les derniers jours de la maturation, la variation est faible ; l'apport compense

à ce moment-là la combustion. L'auteur constate cependant que les caractéristiques de composition sont déjà inscrites dans le fruit au moment de la véraison, et que c'est d'abord dans les feuilles, laboratoires d'élaboration des matériaux, qu'existe déjà la distinction entre les cépages, beaucoup plus peut-être que dans la baie de raisin où une partie seulement des matériaux est consommée.

Parallèlement à ces importants travaux, Mlle Gatet [24] a étudié, en utilisant les méthodes de Peynaud, l'évolution des acides organiques dans les baies de raisin d'autres provenances. En 1936, elle trouve dans les raisins de la région de Cognac, exclusivement les acides tartrique, malique et citrique. Au cours de la maturation des fruits, il y a diminution de l'acidité de titration et diminution de l'acide malique. L'acide tartrique est à peu près constant, sauf en période de sécheresse où il diminue. Cependant, Mlle Gatet note un déficit important dans le bilan des acides. L'auteur pense, sans le montrer, qu'on peut envisager la présence d'acide succinique. Le même déficit se retrouve lors de l'étude des acides organiques des raisins du Cher.

Genevois et Peynaud [2], poursuivant leurs travaux sur la composition chimique des fruits, montrent dans les pêches la présence des acides malique, citrique et pectique. D'une façon générale, l'acide malique est plus abondant que l'acide citrique. C'est ainsi que des pêches May Flower renferment 53 méq d'acide malique et 43 méq d'acide citrique par litre de jus. Cependant, la technique des bilans montre la présence de 53 méq d'acides indosés ; l'absence des acides lactique, acétique, succinique, oxalique, glycolique, glyoxylique, aurait été vérifiée par les auteurs. Ceci les amènent à penser qu'ils se trouvent en présence de corps tels que les acides aconitique, α cétoglutarique, isocitrique et oxycitrique. Plus tard, ils appliquent leurs techniques à la détermination des acides des prunes ; la méthode

des bilans leur permet de se rendre compte qu'il existe des acides qui n'ont pas été déterminés. Dans ces fruits, c'est l'acide malique qui prédomine avec un pourcentage de 90 à 95 p. 100 des acides totaux ; l'acide citrique est le plus souvent à un taux faible et inférieur à 10 p. 100. Les prunes Reine-Claude hâtives, cueillies le 22 juillet 1948, renferment 232 méq par litre de jus d'acide malique ; l'auteur aurait trouvé également 1,1 méq d'acide citrique, mais 66 méq par litre de jus sont indosés. Quantitativement, ces constituants peuvent varier entre des extrêmes fort éloignés.

Tavernier et Jacquin [25], dans les mêmes années, ont utilisé les méthodes de dosage mises au point par Peynaud pour étudier les acides organiques des pommes et des poires. Ils trouvent, dans les pommes, de l'acide malique en grande quantité, accompagné de petites quantités des acides citrique, lactique, succinique. Les pommes Mc Intosh renferment 53 méq d'acide malique par litre de jus, 2,3 méq d'acide citrique, 1 méq d'acide lactique et moins de 0,5 méq d'acide succinique. Au cours de la maturation, l'acide malique diminue par combustion ; les autres acides sont constants. Les bilans acidimétriques montrent que tous les acides ont été dosés. Les poires renferment de l'acide malique et de l'acide citrique, mais suivant la variété étudiée, la composition est sujette à de grandes fluctuations. C'est ainsi que les poires chenevrières contiennent 96,5 méq d'acide malique et 1,9 méq d'acide citrique par litre de jus, alors que les poires Muscadet renferment 49 méq d'acide malique contre 104 méq d'acide citrique par litre de jus. Là aussi les bilans donnent satisfaction aux auteurs.

Enfin, divers autres acides ont été trouvés d'une façon très sporadique. Nous devons signaler par exemple l'acide salicylique qui existerait en très petites quantités dans la fraise, d'après Winton [26], dans le jus de groseilles, dans le jus de prunes et de cerises, d'après Lavollay et Patron [27]. Enfin, de l'acide glyoxylique existerait dans

le raisin vert, d'après Semichon et Flanzy [29] ; il permettrait de déterminer l'indice de maturité.

*
**

La diversité des travaux, la discordance des résultats trouvés et surtout le manque de précision et de spécificité des méthodes employées, sauf peut-être pour les travaux récents, nous ont conduit à reprendre cette question avec des techniques nouvelles, sûres et sensibles.

Dans ces techniques, nous distinguerons deux stades. Pour les besoins de l'exposition, nous étudierons tout d'abord le deuxième stade de la méthode qui est la chromatographie de solutions pures d'acides organiques.

Nous verrons ensuite le premier stade, qui consiste à transformer les organes végétaux, feuilles et fruits, milieux biologiques très complexes, en solutions propres à la chromatographie des acides organiques.

TECHNIQUE CHROMATOGRAPHIQUE DE CARACTÉRISATION ET DE DOSAGE DES ACIDES ORGANIQUES EN SOLUTIONS PURES

Le dosage des acides organiques par les méthodes chimiques classiques a longtemps été imparfait. Ces méthodes ont l'inconvénient d'être longues et de ne s'appliquer, dans une solution donnée, qu'à un acide bien défini. Peynaud [1] reconnaît que les anciennes méthodes au bitartrate pour le dosage de l'acide tartrique ne sont ni exactes ni spécifiques et doivent être abandonnées. Il les a étudiées, modifiées, améliorées. Elles n'en restent pas moins très longues et très délicates. De plus, si elles permettent de doser dans une solution un acide que l'on soupçonne, elles ne permettent pas d'y découvrir un acide ignoré. Il en résulte que pour s'assurer que tous les constituants acides ont été dosés, il faut recourir au procédé des bilans acidimétriques. Ces bilans, ou balance des anions et des cations, consistent à déterminer d'une part la somme des anions de la solution et, d'autre part, la somme des cations. Si tous les acides ont été dosés, la somme des anions doit être égale à celle des cations. Ce procédé indirect ne permet pas de se faire une idée sur la nature des acides inconnus dans le cas où les sommes des anions et des cations sont différentes. De plus, les dosages des acides organiques sont sujets à certaines causes d'erreurs, de même que la détermination de l'alcalinité des cendres qui intervient dans la détermination

de la somme des cations. Il en résulte qu'on peut trouver une différence appréciable entre ces deux sommes, sans que pour cela il y ait un acide indosé, où au contraire les deux sommes peuvent paraître identiques alors qu'il existe un acide indosé en petite quantité.

Nous avons voulu revenir à un procédé rapide et simple de dosage des substances acides. Ce procédé doit nous permettre de déterminer directement, et d'un seul coup, l'existence de telle ou telle substance acide, et éventuellement d'en préciser la nature et la proportion. Si, comme nous le verrons, ce procédé ne possède pas une très grande sensibilité, les erreurs commises sont du moins inhérentes à chaque substance et sans répercussion les unes sur les autres.

Isherwood [30], le premier, pensa à utiliser la chromatographie pour la séparation des acides organiques des fruits. Sa méthode consiste en une séparation par chromatographie sur gel de silice. Les acides isolés sont ensuite dosés séparément, par des techniques simples. Cette technique fut appliquée à la pomme.

Récemment, Bulen, Wamer et Burrel [31] ont remis en honneur cette séparation sur gel de silice et l'ont appliquée à l'étude des acides des fruits et des fleurs de *Bryophillum*.

Les travaux de Lugg et Overell [32], suivis de ceux de Cheftel, Munier et Machebœuf [33], sur la caractérisation des acides organiques par chromatographie de partage sur papier nous ont permis de reprendre cette question sur un plan tout à fait nouveau.

Solvants

De Cheftel, Munier et Machebœuf [33] nous avons utilisé les deux solvants suivants que nous avons dénommés Solvant 1 et Solvant 2.

Solvant 1	Butanol primaire	3	volumes
	Benzoate de méthyle	1	—
	Acide formique	4/5	—
Solvant 2	Propanol	1	volume
	Eucalyptol	1	—
	Acide formique	2/5	—

Rf des acides organiques

Ils ont été signalés par ces auteurs pour le papier Durieux à filtration lente N° 122. Nous les rapportons ici :

Le premier chiffre représente le Rf des acides avec le Solvant 1 et le deuxième avec le Solvant 2.

Acide oxalique	0,05	0,03
— tartrique	0,18	0,13
— citrique	0,28	0,24
— malique	0,38	0,32
— malonique	0,55	0,52
— cétoglutarique		0,63
— succinique	0,67	0,64
— aconitique		0,73
— fumarique	0,79	0,83

Révélateurs

Nous avons emprunté à Lugg et Overell [32] le révélateur au bromophénol bleu obtenu en dissolvant dans un mélange de 95 ml d'éthanol et de 5 ml d'eau, 40 mg de bromophénol bleu.

Les spots d'acides apparaissent très nettement en jaune sur fond bleu ; les chromatogrammes peuvent être conservés.

Mode opératoire

On utilise des feuilles de papier Durieux à filtration lente, numéro 122, de 26 cm de large sur 24 cm de haut. A 2 cm de la base, on trace un trait parallèle à celle-ci. Sur cette droite, on marque des points à partir de 2 cm du bord et ensuite tous les 3 cm. Sur ces points nous déposons de petites gouttes de la solution à étudier à l'aide de micropipettes calibrées. Si la solution est suffisamment diluée, nous déposerons plusieurs gouttes en attendant chaque fois que la goutte précédente soit parfaitement sèche ; cette dessiccation est rapide si on opère sur une platine chauffante que l'on recouvre d'une plaque de porcelaine pour ne pas salir le chromatogramme. On procède à une chromatographie ascendante de six heures avec les solvants indiqués, ou à une chromatographie descendante de trente-six heures.

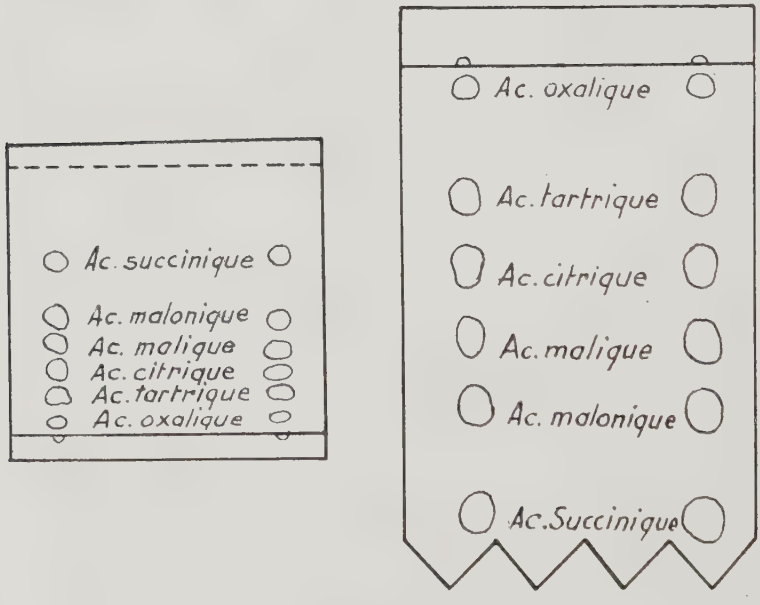

Fig. 1.

Séparation des acides organiques par chromatographie de partage sur papier (d'après Cheftel, Munier et Machebœuf).

Après séchage des chromatogrammes, deux à trois heures dans un courant d'air rigoureusement privé de vapeurs acides ou alcalines, on procède à la révélation. La figure 1 montre les résultats obtenus et indiqués par Cheftel, Munier et Machebœuf [33].

La séparation des acides organiques est bien nette. On peut cependant obtenir une séparation plus poussée, ce qui, dans certains cas, peut être utile, en effectuant une chromatographie à deux dimensions. Pour cela, on effectue deux chromatographies successives avec les solvants 1 et 2, dans deux dimensions différentes.

Etude quantitative des acides organiques

Nous avons étudié les méthodes chromatographiques du point de vue quantitatif. Les acides organiques séparés par les méthodes précédentes peuvent donner lieu à diverses méthodes de dosage ; en particulier, ils peuvent être remis en solution par l'élution du papier et soumis à un microdosage. Lugg et Overell [32] titrent ces acides avec un alcali dilué en amenant à un certain *p*H. On peut également utiliser des méthodes de dosage plus spécifiques. En réalité, ces méthodes ne donnent que des résultats grossiers, en particulier celle qui consiste à déterminer l'acidité de l'éluat. Le papier pour chromatographie renferme des substances, dont des phosphates, qui peuvent avoir une action perturbatrice sur ces résultats en modifiant le pouvoir tampon des éluats. Nous cherchions de plus une méthode rapide et pratique qui puisse se prêter facilement à une expérimentation abondante. De même que l'a fait Polson [34] pour les acides aminés, et que l'ont fait Gibbons et Boisonas [35] et nous-même [36] pour les sucres, nous avons utilisé l'appréciation de la surface des spots pour déterminer la quantité de chacun des acides qui cheminent sur le chromatogramme.

Justification de la méthode

Trois séries d'expériences justifient cette méthode.

Première série d'expériences. — Nous avons déterminé entre quelles limites l'identification et la séparation des acides organiques est possible. Nous avons trouvé qu'on peut déceler sur un chromatogramme un acide à partir du taux de 5 γ. On obtient dans ce cas une très faible et très petite tache jaune sur fond bleu. La séparation est possible jusqu'à des taux individuels de 75 γ pour des acides dont les Rf diffèrent de 0,10. Avec les solvants utilisés, c'est à peu près la différence que nous avons pour les Rf des divers acides organiques courants. A un taux de 100 γ, en chromatographie ascendante de six heures, on observe encore deux taches nettes mais reliées entre elles par une traînée jaune. Les spots ne sont plus nettement individualisés.

Nous avons effectué séparément la chromatographie des acides oxalique, tartrique, citrique, malique, malonique, succinique et fumarique à des taux croissant de 5 en 5 γ et pour des valeurs variant de 5 à 75 γ. La surface des taches croît progressivement, du moins jusqu'à 50 γ. Pour déterminer cette surface, nous avons reproduit les spots par transparence sur un papier calque, dont nous avions auparavant déterminé le poids du millimètre carré. Par découpage et pesée de ces reproductions, nous avons déterminé leur surface.

Les taches les plus nettes où la sensibilité est la meilleure correspondent à la concentration de 30 γ. C'est pour cette tache que la différence de surface avec celle moins intense et celle plus intense est la meilleure. La figure 2 montre, pour l'acide malique, cette progression très nette de la surface des spots pour des taches allant de 10 à 40 γ de 5 en 5 γ.

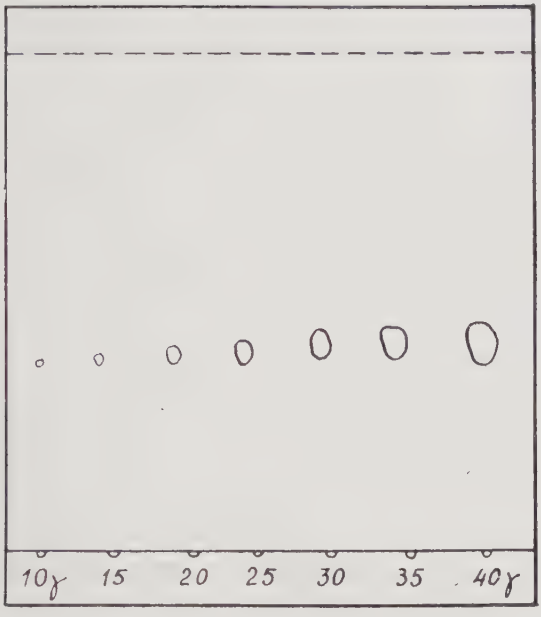

Fig. 2.

Chromatographie de quantités croissantes d'acide malique.

Deuxième série d'expériences. — Nous avons effectué des chromatographies de doses identiques de ces divers acides. Sur un même chromatogramme, nous avons déposé 30 γ d'acide malique par exemple, en des points différents. Après chromatographie et révélation, nous avons déterminé la surface des spots. Nous avons constaté que cette surface ne varie pas d'un spot à l'autre au delà d'une marge de 10 p. 100. Si l'on fait la moyenne de la surface des spots pour 30 γ d'acide malique, portant sur dix taches d'un même chromatogramme, on constate que la surface des spots ne s'écarte guère de cette moyenne au delà d'un taux de 5 p. 100. Ainsi en témoignent nos chromatogrammes.

Troisième série d'expériences. — Les deux expériences

précédentes montrent qu'on peut déterminer la quantité d'un acide organique par chromatographie de partage sur papier. Mais en est-il de même lorsque plusieurs acides sont mélangés ? Ne se produit-il pas des modifications dans le cheminement et la diffusion de chacun des acides par suite de la présence des autres ? Autrement dit le mélange de plusieurs acides n'est-il pas capable de fausser les résultats précédents ? Nous avons effectué des chromatographies d'un mélange de quantités constantes de plusieurs acides : oxalique, tartrique, citrique, malique, malonique, succinique et fumarique. Nous avons effectué ensuite des chromatographies de doses croissantes de l'un quelconque de ces acides en présence de doses constantes des autres acides. Nous avons constaté que la surface des spots n'est en rien modifiée par le mélange de ces acides. Le dosage des acides organiques dans un mélange de ceux-ci est donc possible par la méthode d'appréciation de la surface des spots après chromatographie de partage sur papier.

Mode opératoire

On utilise des feuilles de papier Durieux n° 122 à filtration lente de 26 cm de large sur 24 cm de haut. A 2 cm de la base pour une chromatographie ascendante et à 5 cm pour une chromatographie descendante, on trace un trait parallèle à celle-ci. Sur cette droite on marque des points à partir de 2 cm du bord et ensuite tous les 3 cm. Sur ces points, nous disposons un volume déterminé de la solution à étudier à l'aide de micropipettes calibrées.

On dépose sur le chromatogramme des quantités croissantes et diverses d'un mélange d'acides témoins. On procède à une chromatographie descendante de trente-six heures ou à une chromatographie ascendante de six heures avec les solvants 1 et 2. Les chromatogrammes sont suspendus dans un courant d'air pendant deux heures.

On révèle les spots par pulvérisation du révélateur au bromophénol bleu. On compare la surface des taches avec les témoins.

Remarque : Lorsque l'on veut déterminer le taux d'un acide avec une plus grande précision, on effectue la chromatographie de doses variables de la solution à étudier et l'on détermine celle qui permet d'obtenir un spot correspondant à 30 γ d'acide.

Conclusions

La détermination quantitative des acides organiques par chromatographie de partage sur papier est possible avec une erreur de 5 à 10 p. 100 près. Cette détermination est rapide, spécifique et sensible. Elle a l'avantage de permettre du même coup la mise en évidence d'une substance acide que l'on ne soupçonnait pas, de permettre son isolement en petites quantités et de fournir par la détermination de son Rf une constante physique qui contribue à l'identifier.

MÉTHODE DE PURIFICATION DES EXTRAITS VÉGÉTAUX EN VUE D'UNE ÉTUDE CHROMATOGRAPHIQUE DE LEURS ACIDES ORGANIQUES SOLUBLES.

Les extraits végétaux ne peuvent pas se prêter tels qu'on les obtient à une étude chromatographique. Les acides organiques sous formes hydrosolubles sont en partie salifiés ; cette fraction échapperait au dosage. Il faut éliminer tous les cations métalliques pour ne conserver que les anions. Il faut également éliminer les sels minéraux qui provoquent des phénomènes d'ionisation. Les sucres et toutes les substances extraites en quantité assez abondante saturent le pouvoir d'absorption du papier et diminuent la quantité d'acides déposés ; ils provoquent des phénomènes parasites à un cheminement correct ; il faut s'en débarrasser.

L'usage des échangeurs d'ions semble peut-être indiqué. Par cette technique, on peut résoudre tous les problèmes précédents ; les anions sont fixés sur les résines. La régénération de ces anions par élution est sûrement moins bien définie. Aussi, nous avons préféré une technique que nous avons mise au point. Elle a l'avantage également d'être plus simple et plus rapide.

Principe

Les organes végétaux finement divisés subissent une décoction aqueuse ; le décocté filtré est additionné de sous-acétate de plomb liquide, après avoir été amené à

*p*H 7 par la soude normale. Le précipité est recueilli par centrifugation et lavé à l'eau distillée. On le remet en suspension dans l'eau. La suspension est amenée successivement à *p*H 1 par l'acide sulfurique au cinquième, à *p*H 8 par la lessive de soude et à *p*H 1 par l'acide chlorhydrique au demi. On filtre. La solution est évaporée presque à sec et desséchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre. La poudre sèche est reprise plusieurs fois par la pyridine. On évapore à sec la pyridine. On reprend le résidu par une quantité adéquate d'eau distillée. On centrifuge. La solution obtenue est utilisable pour la chromatographie.

Mode opératoire

On découpe finement dans une capsule de porcelaine 20 g d'organes végétaux : feuilles ou fruits. On ajoute 60 ml d'eau distillée. On effectue une décoction de dix minutes ; on rajoute, si besoin est, de l'eau distillée. On passe sur une gaze ; on presse. On remet à tremper dans 20 ml d'eau distillée. On presse à nouveau. On mélange les solutions obtenues. On laisse refroidir et on filtre sur papier. On lave le filtre à l'eau distillée. On amène la solution à *p*H 7 par de la soude normale à l'aide d'un *p*Hmètre électrométrique. On ajoute 10 ml de sous-acétate de plomb liquide. On mélange ; on centrifuge. Le précipité recueilli au fond du tube est lavé parfaitement à l'eau distillée par deux lavages successifs suivis de centrifugation. Le précipité est remis en suspension dans 50 ml d'eau distillée et transvasé dans un becher. A l'aide d'un *p*Hmètre électrométrique on amène la suspension de *p*H 6,8-6,9 à *p*H 1 par l'addition goutte à goutte d'acide sulfurique au cinquième. On ajoute ensuite de la lessive de soude jusqu'à *p*H 8, puis de l'acide chlorhydrique au demi jusqu'à *p*H 1. On filtre, on recueille la solution dans un becher. On concentre par ébullition à feu nu jusqu'à 2 à 3 ml en

prenant soin sur la fin de ne pas laisser calciner le résidu. On ajoute du sulfate de sodium anhydre jusqu'à l'obtention d'une poudre pulvérulente. On laisse la dessiccation se terminer à l'étuve à 60° C. pendant six heures ou une nuit. Le résidu sec, rendu pulvérulent par trituration au mortier, est introduit dans un erlenmeyer bouchant à l'émeri de 250 ml. On reprend ce résidu par 35 ml de pyridine pure et sèche, par agitation de dix minutes à l'agitateur mécanique. La solution est décantée. On recommence cette opération trois nouvelles fois. Les solutions pyridinées sont rassemblées, filtrées et recueillies dans un becher de 150 ml. On les évapore à sec par l'action combinée de la chaleur fournie par un réchaud électrique et d'un violent courant d'air fourni par un ventilateur. Le résidu est repris par une quantité d'eau distillée adéquate pour que 10 mm^3 de la solution aqueuse obtenue renferment une quantité d'acides organiques qui conviennent à l'étude chromatographique telle que nous l'avons définie précédemment. On centrifuge à grande vitesse dix minutes. On recueille la solution limpide. On l'utilise pour l'étude chromatographique.

Discussion

Pour bien comprendre la suite des opérations que nous venons d'indiquer, voyons brièvement, d'une façon générale, la composition des extraits aqueux obtenus à partir des feuilles et des fruits et les modifications qu'elle subit au cours des différents traitements que nous leur faisons subir.

Composition des extraits aqueux.

Lorsqu'on soumet le végétal à l'action de l'eau bouillante, on détruit la structure cellulaire ; l'eau pénètre à l'intérieur des cellules, dissout les substances solubles et entraîne en suspension ou sous forme de solution colloïdale pas mal de particules et de substances diverses.

La solution contient la totalité des substances solubles ; parmi celles-ci il faut citer :

— Les substances minérales à l'état de sels.

— Les acides organiques libres et salifiés.

— Des oses simples ou condensés.

A côté, on trouve d'autres substances à l'état de solution colloïdale :

— Les matières pectiques et les gommes.

— Les peptones et les substances protéiques.

Il existe également pas mal de particules en suspension de nature diverse.

Filtration.

Elle a justement pour but d'éliminer ces particules en suspension et en particulier dans le cas des feuilles et des fruits verts l'oxalate de calcium qui a pu être entraîné. Dans la suite des opérations l'acide oxalique serait libéré, nous le retrouverions sur le chromatogramme.

Addition de sous-acétate de plomb liquide.

Cette addition, précédée d'une neutralisation, a pour effet de provoquer une précipitation abondante au sein de la solution. Parmi les substances précipitées nous trouvons :

— Les acides organiques à l'état de sels de plomb, sauf les acides organiques volatils, acétique et lactique.

— Les acides minéraux à l'état de sels de plomb.

— Les substances en solution colloïdale, entraînées par suite d'une précipitation physique.

Il est nécessaire de bien laver le précipité pour éliminer toutes traces de substances restées en solution, les sucres en particulier.

Variations du pH de la solution.

Le précipité remis en suspension va subir une série d'opérations destinées à amener les acides organiques en solution et à l'état entièrement libre, tout en laissant le

plus possible les autres substances insolubilisées ou sous forme telle qu'elles puissent être éliminées dans les opérations suivantes. C'est pour cela qu'à l'aide d'acide sulfurique, de soude et d'acide chlorhydrique, on amène successivement le *p*H de la solution aux valeurs 1, puis 8, puis 1. Nous allons voir ce qui se passe à chaque stade.

1° Lorsqu'on amène le *p*H à 1 par l'acide sulfurique au cinquième :

— Tous les acides organiques précipités repassent en solution sous forme libre. Le pK de ces acides est tel qu'à *p*H 1 ils sont tous sous forme libre. Il se forme par contre un précipité de sulfate de plomb, qui élimine la totalité du plomb de la solution.

— Les substances colloïdales restent insolubilisées.

— Il reste de l'acide sulfurique libre en excès qui serait gênant et qu'il faut éliminer.

2° Lorsque nous amenons le *p*H à 8 par la lessive de soude :

— Les acides organiques restent en solution, mais passent sous forme de sels de sodium.

— L'acide sulfurique en excès est neutralisé et donne du sulfate de sodium.

3° Lorsqu'on amène le *p*H à 1 par l'acide chlorhydrique au demi :

— Les acides organiques repassent à l'état libre.

— Le sulfate de sodium ne subit pas de transformation.

— Il y a de l'acide chlorhydrique libre en excès.

— Les substances colloïdales restent insolubilisées ; elles sont éliminées par filtration.

4° Après filtration la solution contient :

— Acides organiques à l'état libre.

— Sulfate de sodium.

— Acide chlorhydrique.

Evaporation à sec.

Elimine l'eau et l'acide chlorhydrique qui est volatil et qui forme avec l'eau un mélange azéotropique.

Reprise par la pyridine.

Elle dissout les acides organiques libres, mais pas le sulfate de sodium qui est éliminé. On obtient donc une solution pyridinée des acides organiques.

La déionisation des solutions par la pyridine pour usage chromatographique a été préconisée par Malpress et Morrisson [37]. Ils ont montré que les sels des acides inorganiques sont insolubles dans ce solvant.

Nous avons étudié la solubilité des acides organiques dans la pyridine ; nous avons montré que dans les conditions opératoires la totalité des acides organiques extraits passent en solution dans le volume important de pyridine utilisée. Nous avons déterminé la solubilité dans ce solvant des principaux acides organiques courants. Nous indiquons leur solubilité dans les conditions opératoires soit par agitation de dix minutes à la température de 20° :

Acide oxalique : 1,27 g pour 100 g de solvant.

Acide tartrique : 3,31 g pour 100 g de solvant.

Les acides citrique, malique, malonique, succinique et fumarique sont très solubles dans la pyridine.

D'après ceci, il semble justement que plus un acide possède de groupements organiques, plus il est soluble dans la pyridine. Nous sommes donc assuré qu'en cas de présence d'un acide organique quelconque dans un organe végétal, nous le retrouverons dans la solution pyridinée ; nous pensons par exemple à des acides intermédiaires du phénomène de la respiration ou même de la photosynthèse.

Reprise par l'eau.

La dessiccation élimine la pyridine dont la tension de valeur est élevée ; la reprise par l'eau nous donne une solution aqueuse à peu près pure des acides organiques hydrosolubles des végétaux ; ceux-ci sont entièrement à l'état libre.

Il faut signaler que de petites quantités de flavonol

persistent dans la solution. On les retrouve sur le chromatogramme ; elles ne sont pas gênantes. Les phosphates également ne sont pas entièrement éliminés ; on les retrouve en solution sous forme de phosphate monosodique. Cette substance possède un Rf bien défini que nous avons mesuré, et ne peut pas prêter à confusion avec d'autres formes du phosphore dans le végétal, en particulier des formes organiques dont les Rf sont plus élevés. De plus, les phosphates n'existent qu'en faibles quantités chez les végétaux.

Conclusion

Nous avons indiqué une méthode efficace de purification des extraits végétaux. Elle est pratique car elle ne demande que des appareils ou des réactifs couramment répandus dans les laboratoires ; elle ne comporte aucun stade particulièrement délicat. Malgré le nombre de manipulations, en apparence élevé, elle est rapide car les divers stades s'enchaînent facilement et sont de courte durée. Elle nous a toujours donné d'excellents résultats. Elle est au moins aussi bonne que l'emploi des échangeurs d'ions.

GÉNÉRALITÉS

Nous nous proposons d'apporter à l'étude de la physiologie des fruits des connaissances nouvelles qui puissent contribuer à la compréhension de ces phénomènes si complexes. Nous savons que la physiologie est régie par une multitude de modifications biochimiques qui sont la cause de la grande variété des constituants chimiques. Ces substances si diverses évoluent indépendamment, côte à côte, grâce à la structure particulière des tissus vivants. Au cours du développement du végétal et en particulier au cours de la formation et de la maturation du fruit, il se produit des augmentations ou des diminutions de telle ou telle substance ; il apparaît ou il disparaît à un moment donné telle ou telle autre. Ces modifications peuvent être caractéristiques d'un moment donné de la vie de la plante, correspondre à une période importante du métabolisme vital. C'est la connaissance de tous ces phénomènes qui permet de mieux saisir pourquoi telle ou telle transformation se produit ; inversement, on prévoit que cette transformation entraîne des modifications dans la teneur des constituants chimiques ; cette relation permet de se rendre compte, au contraire, d'une évolution pathologique du végétal et avant même qu'elle soit apparente par transformation de la morphologie ; l'avenir est inscrit dans la composition chimique ; on peut prévoir, remédier au mal. C'est pour cela que l'analyse a besoin de connaître parfaitement l'évolution normale et voire même pathologique des diverses subs-

tances chimiques. L'apport constant de travaux nouveaux l'aide dans cette voie. Notre espoir est que ce modeste travail y apporte sa contribution.

Parmi ces constituants, les acides organiques occupent une place de premier choix. Ils déterminent le *p*H des cellules qui règle la vie même de celles-ci ; ils conditionnent par leur nature et par leur taux l'acidité du fruit, qui est un des facteurs utilisés pour déterminer la maturation ; ils règlent la qualité gustative de ce fruit. Il est admis qu'ils prennent naissance dans la feuille, au cours de deux phénomènes capitaux : la respiration cellulaire et la photosynthèse. Ces acides migrent dans le fruit, où ces mêmes phénomènes peuvent d'ailleurs se produire avec une intensité faible. La respiration est le phénomène le plus important. Elle consiste en une destruction des glucides par dégradation sous l'influence de l'oxygène et catalyseurs oxydasiques. Les acides organiques sont des intermédiaires entre les glucides et l'eau. La plupart des transformations peuvent être rattachées au cycle des acides organiques de la cellule vivante de Krebbs [38]. On assiste aux transformations des glucides en acides cis-aconitique, isocitrique et citrique, α cétoglutarique, succinique, fumarique, malique et oxaloacétique. L'acide tartrique, d'après Mc Nair [39], dériverait de l'acide succinique. L'acide oxalique proviendrait de l'oxydation des acides tartrique et malique. Les glucides donnent également des combinaisons avec l'acide phosphorique pour former des oses-phosphates variés qui sont des acides organiques ; ces acides peuvent se trouver au cours du phénomène de la photosynthèse. Gatet [24] a montré que ces acides ne se forment probablement pas dans la baie du raisin ; ils s'accumulent dans le fruit jeune en cours de croissance.

Nous nous proposons d'étudier la nature et le taux des acides organiques dans la feuille et le fruit cueillis simultanément sur le même arbre, afin de comparer entre elles

les valeurs et de saisir vraiment le rôle de chacun de ces acides dans le métabolisme général de la plante.

L'étude de l'évolution de ces acides au cours du développement et de la maturation des fruits est intéressante à suivre. Elle permet de discerner quel est l'acide le plus important de ces fruits, celui qui joue un rôle primordial dans sa constitution. Dans un fruit on peut trouver plusieurs acides, mais, souvent, c'est sur un seul que portent les modifications et les variations ; c'est lui qui varie avec les changements climatériques et en fonction de la maturation. C'est donc lui qu'il importe de connaître et d'étudier surtout. D'autres sont là le plus souvent sans subir de changements notables ; ils semblent jouer un rôle passif. Il est important de faire la distinction entre ces divers acides.

Nous avons voulu déterminer quelle était l'influence dans une même espèce de la variété. Pour plusieurs fruits, nous avons effectué nos dosages parallèlement pour diverses variétés, tout particulièrement pour la vigne.

Nous avons mis en application nos techniques sur plusieurs espèces de fruits. Nous avons étudié les fraises, les groseilles, les cerises, les pêches, les abricots, les poires, les prunes, les raisins. La nature et l'évolution des acides organiques diffèrent beaucoup dans ces diverses espèces. C'est la connaissance de diverses espèces qui permettra de préciser nos vues sur ces mécanismes si complexes.

L'évolution des acides organiques est liée au développement même de la plante. Ils conditionnent le *p*H des sucs cellulaires, l'acidité de titration. Ils sont en relation directe avec les glucides et ont une évolution parallèle. Nous avons donc noté les variations de poids des fruits au cours de leur développement, les modifications du *p*H et de l'acidité de titration des jus d'extraction ; nous rapportons l'évolution de la somme des glucides solubles dans l'eau.

MÉTHODES UTILISÉES

Dans ce travail, nous avons déterminé, pour chaque organe étudié : l'acidité de titration, le *p*H, les sucres totaux, les acides organiques par voie chromatographique. Les méthodes utilisées sont, soit des méthodes classiques, soit des techniques particulières comme pour la détermination des acides organiques. Nous allons les rappeler brièvement.

Acidité de titration

On la mesure par titration à la soude décinormale en présence de phénolphtaléine comme indicateur. On opère sur 10 ml de l'extrait aqueux des organes. On exprime en milli-équivalent. On rapporte les chiffres soit à un organe, soit à 100 g d'organe.

*p*H

On détermine le *p*H de l'extrait aqueux des organes directement à l'aide d'un *p*Hmètre électrométrique, avec une approximation de 0,1 près.

Sucres totaux

On les dose par la méthode de G. Bertrand sur 10 ml d'extrait aqueux des organes après hydrolyse chlorhydrique. Pour cela, le *p*H de la solution est amené à 1 par l'acide chlorhydrique. L'on porte la solution trente minutes à la température de 100° C. On ramène au volume initial et l'on effectue le dosage.

Acides organiques

Nous avons montré qu'il était possible de transformer les organes végétaux en solutions propres à la chromatographie de partage sur papier. Or, par chromatographie de partage sur papier, il est possible de déterminer la nature des acides organiques d'une solution. Nous avons montré qu'on pouvait également, par détermination de la surface des spots, apprécier la quantité respective de ces acides. Il suffit d'opérer dans des conditions rigoureuses et précises pour que le taux d'acides sur le papier exprimé en γ soit en relation directe avec le taux de ces acides dans les organes étudiés. Nous exprimerons ces résultats en milliéquivalents pour un organe ou pour 100 g d'organes.

Poids des organes

Le poids que nous indiquons pour les organes représente un poids moyen. Il est obtenu en divisant par dix le poids de dix de ces organes prélevés sur un même arbre.

Pour les baies de groseilles ou de raisins, le poids moyen a été déterminé à partir de cent baies.

ÉTUDE DU FRAISIER

(*Fragaria vesca*)

Notre étude a porté sur des fraisiers, variété « Hâtive », prélevés à Caudéran, aux alentours de Bordeaux.

Nous avons étudié, en fonction de la maturation, la variété du poids des fruits et des feuilles, de leur *p*H, des sucres totaux de ces organes et de l'acidité de titration. Nous avons déterminé la nature et le taux des divers acides organiques. Nous avons rapporté les résultats à un organe et à 100 g d'organes frais.

Le tableau I montre qu'au cours de la maturation les feuilles, et surtout les fruits, se développent et augmentent de poids. Pour les fruits, le développement est surtout important avant la véraison.

Les sucres totaux de la feuille semblent à un taux constant. Cela est vrai si l'on considère la totalité des sucres d'une feuille, mais si l'on tient compte qu'elle augmente de poids, le taux de sucres par rapport à l'unité de poids diminue. Le même phénomène se produit pour les fruits. Si l'on rapporte les valeurs trouvées à un organe, on constate que jusqu'à la véraison les fruits accumulent beaucoup de sucres. De la véraison à la maturité cette accumulation diminue et est assez faible. Par contre, si l'on envisage un poids donné de fruit, son taux en sucres totaux est à peu près constant et n'augmente qu'en faible quantité.

TABLEAU I

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à un organe
— » » » » II » » à 100 grammes d'organes frais

Origine : Caudéran
Année : 1953

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
										χ	Acide malique		Acide citrique	
					I	II		I	II		I	II	I	II
20.IV	Hâtive	Feuille	Vert	5	0,140	2,80	5,4	0,60	12	+	—	—	—	—
8. V	»	»	Véraison	5,6	0,146	2,60	5,1	0,67	12	+	—	—	—	—
16. V	»	»	Mûr	7,5	0,160	2,13	5,3	0,72	9	+	—	—	—	
20.IV	Hâtive	Fruit	Vert	1,33	0,017	1,27	3,4	0,20	15,5	+	—	—	0,10	7,75
8 V	»	»	Véraison	4,6	0,075	1,63	2,9	0,49	10,9	—	—	—	0,53	12
16 V	»	»	Mûr	5,2	0,081	1,56	2,8	0,81	15,6	—	0,09	1,6	0,80	15,5

Le *p*H des feuilles est à peu près constant, légèrement au-dessus de 5. Il semble passer par un minimum peu accentué au moment de la véraison. Les fruits ont un *p*H plus acide qui diminue d'une façon nette jusqu'à la véraison, et très légèrement de la véraison à la maturité. On doit, d'après ces valeurs, considérer les fraises comme des fruits moyennement acides.

Parallèlement au *p*H, nous avons étudié et suivi l'évolution de l'acidité de titration. Celle des feuilles varie peu. Elle augmente légèrement au cours du développement, si l'on considère la quantité d'anions contenus dans une feuille moyenne, mais au cours de la maturation, l'acidité de titration d'un poids d'organe diminue légèrement.

La quantité d'anions à l'intérieur d'un fruit augmente d'une façon importante, au cours du développement du fruit vert et surtout au cours de la maturation du fruit, après la véraison. Mais si l'on tient compte du grossissement du fruit, cette acidité varie peu lorsqu'elle est rapportée à un certain poids d'organe.

Il ressort qu'au cours du développement du fruit, la

composition des feuilles est presque constante, tant au point de vue de la quantité des sucres que de celle des acides. Ceci montre bien qu'à ce moment-là la feuille n'est pas un organe en évolution, mais un système équilibré qui fabrique beaucoup de choses mais les distribue dans la plante. Elle n'a pas de rôle de réserve, mais simplement un rôle fournisseur et distributeur.

Par contre, le fruit subit des modifications importantes. Tout d'abord, il grossit, accumule des sucres, mais surtout des acides. Il reçoit toutes ces substances des feuilles. En réalité, il n'y a pas accumulation au sens propre. Les tissus ont le même pourcentage de ces substances, mais par suite du développement des tissus, la quantité de sucres et d'acides augmente.

Lorsque nous avons étudié la nature de ces acides et leurs taux respectifs, nous avons été surpris de ne trouver dans la feuille aucun des acides organiques courants des fruits. Le tableau I montre que la totalité de l'acidité est constituée par une substance acide ou plusieurs substances acides très voisines les unes des autres, que nous n'avons pas d'ailleurs pu identifier. Nous l'avons désignée par la lettre X. C'est là un fait nouveau et inattendu. Cependant, nous apportons quelques données qui peuvent contribuer à sa détermination. Le Rf de ces substances est faible et toujours inférieur à 0,10 avec le Solvant 1. Une chromatographie descendante nous montre d'ailleurs l'existence de plusieurs spots. Enfin, ces substances isolées en petite quantité par chromatographie de partage sur papier ont été éluées dans 2 ml d'eau distillée. Nous avons obtenu une réaction céruléomolybdique du phosphore positive, selon la technique de Denigès : la présence d'ions phosphates dans leur molécule et les valeurs des Rf de ces substances, voisines de celles des esters phosphoriques des oses, et nettement différentes de celle du phosphate monosodique, nous autorise à penser que nous sommes en présence de molécules intermédiaires du métabolisme, soit

au cours de la photosynthèse, soit au cours de la respiration. La présence de ces esters phosphoriques ne nous étonnerait pas tellement. De nombreux travaux, en particulier ceux de Benson [42], Hanes et Isherwood [41] montrent que les principaux composés apparus au cours de la photosynthèse sont des dérivés phosphoriques. Mais, ce qu'il est intéressant de constater, c'est que la nature des acides des fruits est tout à fait différente et varie même avec la maturation. Dans le fruit vert, on retrouve ces esters phosphoriques à côté de l'acide citrique. Ces substances sont en quantités à peu près égales. Dans le fruit à la véraison on ne retrouve plus que de l'acide citrique, et en quantités bien supérieures à celles du fruit vert. Enfin, dans la fraise mûre, même à côté de quantités importantes d'acide citrique on retrouve de petites quantités d'acide malique, ce qui est en accord avec les travaux de Nelson [20]. L'acide citrique représente donc l'acide essentiel des fraises. C'est lui qui en détermine l'acidité ; il croît au fur et à mesure de la maturation. Il ne se trouve pas dans les feuilles. Il faut en conclure qu'il est éliminé de celles-ci au fur et à mesure de sa formation. La présence dans le fruit vert de substances acides X peut être interprétée de deux façons. Ou bien elles proviennent du fonctionnement du fruit comme organe vert, au même titre que la feuille, ou bien elles résultent d'un transport depuis la feuille, de même que l'acide citrique ; lorsque le fruit mûrit, la feuille perdrait cette propriété de lui expédier ces substances intermédiaires du métabolisme et ne lui fournirait plus que de l'acide citrique et un peu d'acide malique. Le fait de l'existence exclusive de ces substances X dans la feuille et de leur disparition dans le fruit au cours de la maturation, est en accord avec l'idée qu'elles doivent jouer le rôle de substances intermédiaires dans la formation des acides de ces fruits par respiration.

Conclusion

Au cours de la maturation des fraises, les feuilles du fraisier semblent jouer un rôle distributeur et se signalent par la faible variation de leur composition ainsi que la présence exclusive comme acides de substances de nature exacte indéterminée.

Par contre, les fruits se développent, grossissent et par suite de la formation de nouveaux tissus s'enrichissent en sucres et en acides. Leur acide essentiel est l'acide citrique dont la teneur augmente avec la maturation, alors que les substances acides inconnues disparaissent dès la véraison. A maturité, on trouve également de faibles quantités d'acide malique.

ÉTUDE DU GROSEILLIER A GRAPPES

(*Ribes rubrum*)

Notre étude a porté sur des groseilliers de la variété « Hâtives de Berlin » prélevés à Caudéran, aux environs de Bordeaux.

Nous avons étudié, en fonction de la maturation, la variation du poids des fruits et des feuilles, de leur *p*H, de leurs sucres totaux et de l'acidité de titration. Nous avons déterminé la nature et le taux des divers acides organiques. Nous avons rapporté les résultats à un organe et à 100 g d'organes frais.

Au cours de la maturation, le poids des feuilles et des fruits augmente. Ces organes se développent. Pour les feuilles, ce développement est peu sensible jusqu'à la véraison du fruit. On l'observe surtout au moment où le fruit arrive à sa maturité physiologique. Les variations de poids du fruit sont plus importantes, et à peu près régulières, comme le montre le tableau II.

Les sucres totaux de la feuille, lorsque l'on rapporte les résultats à un organe moyen, subissent des variations étonnantes. Au cours du développement, il y a jusqu'à la véraison du fruit peu de modifications ; nous avons noté même une légère diminution des sucres contenus dans un organe, ce qui, rapporté à 100 g d'organes frais, représente une diminution sensible du taux de sucres par suite du développement de ces organes. De la véraison à la maturité du fruit, la quantité totale des sucres d'une feuille augmente nettement, ce qui ramène son taux, rapporté à 100 g d'organes frais, à une valeur peu différente de celle obtenue lorsque l'organe était vert.

TABLEAU II

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à un organe
— » » » » II » » à 100 grammes d'organes frais

Origine : Caudéran
Année : 1953

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
										χ	Acide malique		Acide citrique	
					I	II		I	II		I	II	I	II
20.IV	Hâtives de Berlin	Feuille	Vert	0,32	0,0062	1,95	4,9	0,24	75	+	—	—	0,01	3
16. V	»	»	Véraison	0,40	0,0052	1,30	4,4	0,28	70	+	—	—	—	—
6.VI	»	»	Mûr	0,65	0,0139	2,10	4,1	0,58	89	+	—	—	—	—
20.IV	Hâtives de Berlin	Fruit	Vert	0,11	0,0014	1,20	3,6	0,017	15,4	+	0,001	1	0,001	1
16. V	»	»	Véraison	0,22	0,0026	1,21	2,9	0,052	23,6	—	0,014	6	0,042	19
6.VI	»	»	Mûr	0,30	0,0060	2	2,1	0,063	21	—	0,005	1,9	0,064	21,5

Pour les fruits, on observe une accumulation de sucres au cours du développement. Leur valeur quadruple de l'organe vert à l'organe mûr. Cette accumulation se produit surtout après la véraison. Rapportés à 100 g d'organes frais, ces chiffres montrent que le taux des sucres dans le tissu est constant jusqu'à la véraison, mais qu'il augmente après la véraison ; ceci confirme bien l'idée de cette accumulation de sucres dans les baies du groseillier après la véraison.

L'étude du *p*H nous a montré une acidification constante de la feuille et du fruit au cours de la maturation. Cette diminution du *p*H s'accompagne d'une augmentation de l'acidité de titration. Dans la feuille, cette augmentation est bien nette de la véraison à la maturité du fruit. Elle est parallèle à l'augmentation des sucres. A ce moment-là, la feuille semble connaître un brusque développement inattendu, se manifestant par une augmentation de poids de la teneur en sucres et en acides. Par contre, la baie du groseillier suit les variations normales de la maturation. De même, nous l'avons vu, qu'il se

produit une accumulation des sucres après la véraison, de même il se produit un enrichissement en acides avant la véraison. Après la véraison, le grossissement de la baie entraîne une faible augmentation de l'acidité d'un organe mais, rapportée à un poids donné d'organes, on constate une diminution de cette acidité.

Lorsque l'on envisage la nature et les proportions de chacun des acides, on constate des différences importantes entre la feuille et le fruit. Dans la feuille, la quasi totalité des acides est représentée par ces substances dont nous avons déjà noté la présence dans les feuilles du fraisier. Celles des feuilles du groseillier ont des Rf analogues à celles des feuilles du fraisier ; elles possèdent, dans leur molécule, des ions phosphates. Les mêmes raisons nous autorisent donc à penser que nous nous trouvons en présence de molécules intermédiaires du métabolisme. Il est intéressant de noter, dans les feuilles cueillies au moment où le fruit était vert, la présence en petites quantités d'acide citrique qui est l'acide le plus important des fruits. Nous n'avons pas retrouvé cet acide aux autres stades de l'évolution, du moins à un taux suffisant pour être mis en évidence par nos techniques. Dans le fruit vert, nous retrouvons ces substances acides X en quantités importantes. Elles sont accompagnées de petites quantités d'acides malique et citrique. Mais au cours du développement du fruit, les proportions respectives de ces acides vont changer. Dès la véraison chacun a pris l'importance qu'il occupera dans le fruit mûr. Les substances X ont disparu. Les raisons de cette disparition, que nous avons exposées dans l'étude du fraisier, restent les mêmes. L'acide malique devient un acide secondaire à côté de l'acide citrique qui s'est accumulé en quantités importantes. Au cours de la maturation, on constate une accumulation continue d'acide citrique, alors que l'acide malique, sans doute brûlé par la respiration, diminue. L'acide citrique représente l'acide essentiel des baies du

groseillier ; l'acide malique joue un rôle important au cours de la maturation. Sa diminution est en rapport avec l'adoucissement des fruits. La figure 3 nous montre une

Fig. 3.

Groseillier variété « Hâtives de Berlin ».
Véraison du fruit.

24 : feuilles;
25 : fruits;
T : acides tartrique, citrique, malique, malonique, succinique.

chromatographie de feuilles et de fruits du groseillier variété « Hâtives de Berlin », prélevés au moment de la véraison du fruit.

Conclusion

Au cours de la maturation des groseilles, les feuilles du groseillier ne subissent pas de modifications notables jusqu'à la véraison du fruit. Par contre, après la véraison, elles augmentent sensiblement de poids. Leurs acides organiques semblent être uniquement constitués par des substances de nature indéterminée, accompagnées parfois de traces d'acide citrique.

Les fruits se développent, grossissent et accumulent des sucres et des acides. Leur acide essentiel est l'acide citrique toujours accompagné d'acide malique, dont la teneur diminue avec la maturation. Dans le fruit vert on trouve des substances acides inconnues, mais à la véraison elles ont disparu.

ÉTUDE DU CERISIER

(*Cerasus*)

Notre étude a porté sur des cerisiers provenant de Caudéran, aux environs de Bordeaux.

Nous avons examiné deux variétés : la variété « Belle d'Orléans » et la variété « Impératrice Eugénie ».

Nous avons étudié en fonction de la maturation, la variation du poids des fruits et des feuilles, de leur *p*H, de leurs sucres totaux et de l'acidité de titration. Nous avons déterminé la nature et le taux des différents acides organiques. Nous avons rapporté les résultats à un organe et à 100 g d'organes frais.

Au cours du développement et de la maturation de la cerise, les feuilles subissent peu de changement dans leur composition. Les fruits, par contre, sont en perpétuelle évolution. Si l'on considère les deux variétés que nous avons étudiées, on voit que le poids des feuilles varie très peu. Il augmente ou diminue, mais dans des proportions très faibles. Les fruits grossissent ; les fruits de la variété « Impératrice Eugénie » sont plus gros et plus développés à maturité.

Les sucres totaux des feuilles sont en pourcentage à peu près constant. Dans la variété « Belle d'Orléans », qu'on rapporte les résultats à un organe ou à 100 g d'organes frais, leur teneur est la même. Dans la variété « Impératrice Eugénie » leur teneur diminue légèrement au cours de la maturation.

TABLEAU III

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à un organe
— » » » » II » » à 100 grammes d'organes frais

Origine : Caudéran
Année : 1953

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
										%	Acide malique		Acide citrique	
					I	II		I	II		I	II	I	II
30.IV	Belle d'Orléans	Feuille	Vert	0,66	0,0049	0,74	5,7	0,022	3,33	+	0,011	1,66	0,002	0,30
5. V	»	»	Véraison	0,64	0,0047	0,73	5,6	0,022	3,43	+	0,010	1,56	0,002	0,31
18. V	»	»	Mûr	0,60	0,0048	0,60	5,7	0,024	4	+	0,006	1	0,004	0,66
30 IV	Belle d'Orléans	Fruit	Vert	1,33	0,0284	2,13	4,6	0,044	3,308	+	0,020	1,50	—	—
5. V	»	»	Véraison	2	0,0457	2,28	4,3	0,070	3,500	+	0,033	1,65	—	—
18. V	»	»	Mûr	3,50	0,0536	1,53	3,6	0,210	6	+	0,165	4,71	—	—
30.IV	Impératrice Eugénie	Feuille	Vert	0,55	0,0107	1,94	5,7	0,026	4,83	+	0,006	1,09	0,003	0,54
16. V	»	»	Véraison	0,56	0,0064	1,14	5,6	0,028	5	+	0,010	1,78	0,003	0,53
27. V	»	»	Mûr	0,64	0,0058	0,90	5,8	0,036	5,62	+	0,022	3,43	0,007	1,10
30.IV	Impératrice Eugénie	Fruit	Vert	1,75	0,028	1,60	4,8	0,056	3,20	+	0,030	1,71	—	—
16 V	»	»	Véraison	4	0,040	1	3,6	0,225	5,62	+	0,198	4,95	—	—
27. V	»	»	Mûr	7	0,088	1,25	3,7	0,650	9,28	+	0,630	0,90	—	—

Le tableau III montre bien ce fait. Là encore nous sommes frappé par la constance de composition des feuilles, organes distributeurs.

Le fruit, au contraire, accumule des sucres. Cette accumulation se manifeste bien avant la véraison, mais elle est plus importante après cette période. En réalité, par suite de l'emmagasinement d'eau dans les tissus, ceux-ci s'appauvrissent en sucres, mais les sucres totaux d'un organe augmentent.

Le *p*H subit des variations analogues à celle des autres constituants. Dans les feuilles il est invariable, au voisinage de 5,7. Les deux variétés étudiées se comportent de la même manière et possèdent le même *p*H. Les fruits,

par contre, s'acidifient au cours de la maturation. Leur *p*H passe de 4,6-4,8 à 3,7-3,6. Cette acidification des cerises correspond à une accumulation de substances acides. Dans la variété « Impératrice Eugénie » cette accumulation se produit abondamment avant la véraison ; elle se continue plus faiblement jusqu'à la maturité. Dans la variété « Belle d'Orléans » elle se produit surtout après la véraison. Si l'on rapporte les résultats à 100 g d'organes frais, on constate que les tissus s'enrichissent en acides. Le pourcentage de ceux-ci augmente, mais ce phénomène est moins important que celui qui résulte de l'accumulation par développement des tissus. L'étude de l'acidité de titration des feuilles est en accord avec le *p*H. Si le *p*H est constant, l'acidité de titration varie peu. Elle a tendance à augmenter très légèrement, surtout dans les feuilles de la variété « Impératrice Eugénie ». Rapportée à 100 g d'organes frais, elle montre que les tissus ont une acidité à peu près constante.

Cette acidité est représentée dans le fruit et dans la feuille par des acides différents, associés en proportions variées. Celle des feuilles est représentée par trois substances acides. D'abord par des substances inconnues dénommées X. Ces substances possèdent des Rf semblables à celles que nous avons indiquées pour les fraisiers et les groseilliers ; des ions phosphates entrent dans leur composition. Mais à côté de ces substances, acides exclusifs des feuilles de fraisiers et de groseilliers, il faut noter l'existence d'acide malique à un taux important et de quantités plus faibles d'acide citrique. L'acide malique diminue au cours de la maturation dans les feuilles de la variété « Belle d'Orléans » alors que les substances X augmentent. Dans les feuilles de la variété « Impératrice Eugénie » au contraire, il augmente de façon importante alors que les acides inconnus diminuent. L'acide citrique est en quantité bien plus faible et augmente légèrement avec la maturation. Le tableau III montre ces résultats.

si l'on considère les chiffres qui se rapportent à un organe. Les fruits possèdent des proportions bien différentes de ces acides. L'acide citrique a complètement disparu à tous les stades de la maturation ; les substances acides X, très importantes dans le fruit vert, augmentent peu et par suite de l'enrichissement en acide malique leur pourcentage par rapport à l'acidité totale diminue considérablement. L'acide malique représente l'acide le plus important des cerises ; il est accompagné de quantités appréciables

Fig. 4.

Cerisier variété « Impératrice Eugénie ».
Maturité du fruit.

29 : feuilles;
30 : fruits;
T : acides tartrique, citrique, malique, malonique, succinique.

de substances acides X. Il est particulièrement intéressant de noter que l'acide citrique, que l'on trouve régulièrement dans les feuilles, a disparu complètement des fruits. Dans un organe, les quantités d'acide malique augmentent ; mais la teneur des tissus en cet acide augmente également, ce qui montre bien son accumulation intensive. La figure 4 montre une chromatographie de feuilles et de fruits de cerisier variété « Impératrice Eugénie », prélevés au moment de la maturité du fruit.

Conclusion

Au cours de la maturation des cerises, les feuilles du cerisier se signalent par une composition à peu près constante et un développement nul. Il est intéressant de noter que les acides de ces feuilles sont, pour la plus grande partie, constitués de substances acides inconnues, accompagnées d'acides citrique et surtout malique.

Les fruits grossissent et accumulent des sucres et des acides. Leur acide essentiel est l'acide malique, qui s'accumule dans les tissus pendant toute la maturation. On y retrouve à tous les stades de ce phénomène des substances acides indéterminées en quantités notables. Par contre, l'acide citrique, couramment répandu dans les feuilles, ne se retrouve pas dans les fruits.

ÉTUDE DE L'ABRICOTIER

(*Armeniaca vulgaris*)

Notre étude a porté sur des abricotiers de la variété « Bruhel », provenant de Caudéran, aux alentours de Bordeaux.

Nous avons étudié en fonction de la maturation du fruit, la variation du poids du fruit et des feuilles, de leur *p*H, de leurs sucres totaux et de leur acidité de titration. Nous avons déterminé la nature et le taux des différents acides organiques. Nous avons rapporté les résultats à un organe et à 100 g d'organes.

Le tableau IV montre que les feuilles et les fruits augmentent de poids. Cette augmentation est beaucoup plus importante pour les fruits où, en deux mois, le poids décuple presque, alors que celui des feuilles double à peine. Le fruit grossit, les tissus se développent, l'eau s'accumule au cours de sa maturation.

La même différence se retrouve lorsque l'on envisage les sucres totaux de ces deux organes. Ceux de la feuille varient peu. Ils passent par un maximum peu important au moment de la véraison, puis diminuent. Par suite de l'augmentation de poids, le taux de 100 g d'organes en sucres totaux diminue de façon nette avec la maturation. Par contre, le fruit accumule beaucoup de sucres ; cette accumulation est surtout intensive après la véraison ; elle est beaucoup plus importante que le grossissement du fruit, de sorte que les tissus s'enrichissent beaucoup en

sucres, augmentant la saveur sucrée. La vie de la plante est bien orientée vers le développement et la maturation du fruit.

TABLEAU IV

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à un organe
— » » » » II » » à 100 grammes d'organes frais

Origine : Caudéran
Année : 1953

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
										χ	Acide malique		Acide citrique	
					I	II		I	II		I	II	I	II
30.IV	Bruhel	Feuille	Vert	0,68	0,0041	0,602	3,8	0,0648	9,52	+	0,003	0,441	0,001	0,147
12.VI	»	»	Véraison	0,90	0,0056	0,622	3,6	0,1030	11,44	+	—	—	—	—
30.VI	»	»	Mûr	1,25	0,0046	0,368	3,5	0,1660	13,28	+	—	—	—	—
30.IV	Bruhel	Fruit	Vert	8,1	0,0213	0,262	3,1	0,1030	1,27	+	0,071	0,876	0,007	0,086
12.VI	»	»	Véraison	29	0,0333	0,114	2,7	2,5600	8,82	—	1,752	6,041	1,054	3,684
30.VI	»	»	Mûr	60	0,6000	1,000	2,4	13,05	21,75	—	7,15	11,910	7,060	11,760

Le *p*H des feuilles est à peu près constant. Il diminue légèrement pendant la maturation. Celui des fruits diminue également mais dans des proportions plus importantes. A maturité, l'abricot a un *p*H relativement bas, qui lui donnerait une saveur acide nette si celle-ci n'était contrebalancée par une richesse glucidique importante. Cette diminution du *p*H des fruits correspond à une accumulation d'acides très importante. Celle-ci se manifeste surtout après la véraison. Elle correspond, de même que celle des sucres, à un enrichissement des tissus en substances acides. L'acidité ne diminue pas au cours de la maturation, comme on pourrait le penser ; au contraire, elle augmente de façon importante ; le fruit acquiert cependant une saveur douce par suite de l'accumulation parallèle de grosses quantités de sucres. Les feuilles s'enrichissent faiblement en acides ; cette augmentation est due surtout à un développement des feuilles avec formation de nouveaux tissus ; mais le pourcentage par rapport

à un poids donné de feuilles est peu variable. Le phénomène essentiel au cours de la maturation du fruit est l'accumulation en quantités importantes de sucres et d'acides dans le fruit. La feuille n'est pas un organe en évolution.

Lorsque l'on étudie la nature des divers anions organiques, on constate des phénomènes à peu près analogues à ceux que nous avons notés lors de nos études précédentes. Les acides des feuilles sont presque entièrement constitués par ces substances acides que nous pensons pouvoir être des esters phosphoriques. Elles ont des Rf semblables à ces substances ; nous avons pu caractériser les ions phosphates dans leur molécule. Dans la feuille verte, nous avons caractérisé les acides malique et citrique, à côté de ces substances inconnues. Au cours de la maturation du fruit, la proportion des substances X augmente dans les feuilles, alors que les acides malique et citrique disparaissent. Dans les abricots, les choses se passent différemment. Dans le fruit vert, c'est l'acide malique qui domine, accompagné de quantités encore notables de substances acides X et de petites quantités d'acide citrique. Mais, dès la véraison, l'image acide du fruit mûr apparaît. Les acides inconnus ont disparu. Les acides malique et citrique ont augmenté, mais l'acide citrique en proportions plus importantes que l'acide malique ; il est déjà net que les abricots contiennent deux acides importants. A maturité, les acides malique et citrique se trouvent en quantités à peu près égales ; ils constituent les deux acides essentiels des fruits. Que les résultats soient rapportés à un organe ou à 100 g d'organes, on note une augmentation de ces deux acides. Il y a donc enrichissement des tissus en ces acides et accumulation dans les tissus nouveaux qui proviennent du développement du fruit.

Conclusion

Au cours du phénomène physiologique de la maturation et du développement du fruit, les feuilles ont une composition à peu près constante. On note simplement une légère augmentation de poids et d'acidité. Cette acidité est essentiellement représentée par des substances acides de nature indéterminée.

Les fruits augmentent de poids, accumulent de grosses quantités de sucres et d'acides, qui se contrebalancent au point de vue de la saveur. Ces acides sont constitués dans le fruit mûr de quantités égales d'acide malique et d'acide citrique. L'acide citrique s'accumule plus tardivement que l'acide malique, et dans le fruit vert on trouve surtout de l'acide malique, accompagné de petites quantités d'acide citrique et de quantités encore notables de substances acides inconnues.

ÉTUDE DES PÊCHERS

(*Amygdalus persica*)

Notre étude a porté sur deux variétés de pêchers provenant de Caudéran, aux alentours de Bordeaux : la variété « May Flower » et la variété « Amsden ».

Nous avons étudié en fonction de la maturation du fruit, la variation du poids des feuilles et du fruit, de leur *p*H, de leurs sucres totaux et de leur acidité de titration. Nous avons déterminé la nature et le taux des différents acides organiques. Nous avons rapporté les résultats à un organe ou à 100 g d'organes.

Le tableau V montre que, d'une façon générale, les feuilles ont une composition à peu près constante. Elles ne subissent pas d'évolution ; pendant tout le phénomène de la maturation du fruit, elles se comportent comme des organes parvenus à leur état de maturité. Leur poids est peu variable. Il oscille autour de 0,50 g pour une feuille de la variété « May Flower » et 0,30 g pour une feuille de la variété « Amsden ». Les fruits, par contre, se développent et augmentent de poids assez régulièrement pour arriver aux environs de 40 g à la maturité.

Lorsque l'on envisage les sucres totaux, le même phénomène se produit. Dans les feuilles de la variété « May Flower » ils n'augmentent que faiblement, après la véraison. Dans celles de la variété « Amsden » ils se maintiennent à peu près identiques. Le fruit emmagasine des sucres de façon régulière, au cours de son développement et de sa maturation. Les fruits de la variété « May Flower »

TABLEAU V

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à un organe
— » » » » II » » à 100 grammes d'organes frais

Origine : Caudéran
Année : 1953

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
										χ	Acide malique		Acide citrique	
					I	II		I	II		I	II	I	II
27. V	May-Flower	Feuille	Vert	0,40	0,0040	I	5,6	0,0350	8,75	+	0,016	4	0,005	1,25
12. VI	»	»	Véraison	0,50	0,0037	0,74	5,4	0,0232	4,64	+	0,0051	1,02	0,0051	1,02
20. VI	»	»	Mûr	0,50	0,0062	1,24	5	0,0360	7,20	+	—	—	—	—
27. V	May-Flower	Fruit	Vert	13	0,0581	0,446	3,4	0,800	6,153	+	0,40	3,07	0,30	2,3
12. VI	»	»	Véraison	31	0,1333	0,430	3,1	1,254	4,045	+	0,57	1,84	0,57	1,83
20. VI	»	»	Mûr	40	0,3400	0,850	3,2	1,445	3,612	+	0,96	2,40	0,32	0,80
27. V	Amsden	Feuille	Vert	0,30	0,0024	0,800	5,6	0,0137	4,566	+	0,0025	0,83	0,0025	0,83
22. VI	»	»	Véraison	0,30	0,0027	0,900	5,7	0,0175	5,833	+	—	—	—	—
30. VI	»	»	Mûr	0,27	0,0021	0,777	5,5	0,0154	5,703	+	0,0043	1,592	0,0021	0,777
27. V	Amsden	Fruit	Vert	10	0,0592	0,592	3,5	0,400	4	+	0,225	2,25	0,140	1,40
22. VI	»	»	Véraison	32	0,5200	1,625	3,4	1,326	4,14	+	0,714	2,23	—	—
30. VI	»	»	Mûr	44	0,8000	1,810	3,3	1,200	2,72	+	1,024	2,32	0,132	0,30

s'enrichissent moins vite en sucres et sont moins sucrés que ceux de la variété « Amsden ». A maturité, les premiers renferment 0,340 g de sucres totaux par fruit moyen, soit 0,850 g pour 100 g d'organes, alors que les seconds en contiennent 0,800 par fruit moyen, soit 1,81 g pour 100 g d'organes.

Le *p*H suit, pour ces deux variétés, une évolution identique dans les fruits. Il se situe aux environs de 3,3-3,2 dans le fruit mûr ; dans le fruit vert il n'est qu'un petit peu plus élevé. Il ne subit pas de variations importantes. Les feuilles se comportent différemment. Pour celles de la variété « May Flower » le *p*H diminue au cours de la maturation. Pour celles de la variété « Amsden », il est

pratiquement constant et oscille autour de 5,6. Cette constance de composition des feuilles se retrouve lorsque l'on étudie l'acidité de titration. Les feuilles possèdent à peu près le même pourcentage d'acides pendant tout le développement et la maturation du fruit, tant au point de vue de la quantité contenue dans un organe que de celle contenue dans 100 g d'organes. Les fruits, si l'on considère les acides d'un organe moyen, semblent s'enrichir en acides. Il y a accumulation ; mais celle-ci est faible. Par suite du développement important du fruit il en résulte un appauvrissement des tissus. Donc, au cours de la maturation, le fruit reçoit un apport constant d'acides. Par suite de la formation de nouveaux tissus, la quantité d'acides contenue dans un fruit augmente ; ces acides sont brûlés par la respiration, de sorte que le tissu s'appauvrit, et que leur pourcentage rapporté à 100 g d'organe diminue.

La nature de l'acidité des feuilles vertes est représentée par des quantités à peu près égales d'acide malique et de substances acides indéterminées dans celles de la variété « May Flower » accompagnées de quantités moins importantes d'acide citrique. Là encore les substances inconnues possèdent les Rf inférieurs à 0,10 avec le Solvant 1. Nous avons caractérisé dans leur molécule les ions phosphates. Le tableau V montre qu'au moment de la véraison, l'acide malique a beaucoup diminué, l'acide citrique n'a pas varié ; les substances X sont devenues les substances acides les plus importantes. A maturité, les acides malique et citrique ont disparu. Dans les feuilles de la variété « Amsden » nous retrouvons les substances X en première importance. Quand le fruit est vert, les feuilles contiennent de petites quantités d'acides malique et citrique. Au moment de la véraison, ils ont disparu ; ils réapparaissent à maturité. Dans les fruits, les transformations sont différentes. Les fruits de la variété « May Flower » renferment à l'état vert et au moment de la véraison de

l'acide malique et de l'acide citrique en quantités peu différentes, accompagnés de substances X en quantités plus faibles. A maturité, l'acide malique prédomine, accompagné de quantités égales d'acide citrique et de substances X. Mais, si l'on rapporte les résultats à 100 g d'organes et si l'on suit l'évolution de ces acides, on constate que les substances acides X varient peu, que l'acide malique diminue légèrement, tandis que l'acide citrique est le plus brûlé. Dans les fruits de la variété « Amsden »

Fig. 5

Pêcher variété « May Flower ».

Véraison du fruit.

43 : feuilles;
44 : fruits;
T : acides tartrique, citrique, malique, malonique, succinique.

le même phénomène se produit, l'acide malique est le plus important ; il s'accumule dans le fruit et n'est que peu brûlé ; son taux pour 100 g d'organes est à peu près constant pendant la maturation. Les substances X passent par un maximum à la véraison, puis diminuent de façon importante. Quant à l'acide citrique, il se trouve dans le fruit vert en quantités importantes ; à la véraison, il a disparu. Dans le fruit mûr, il existe en petites quantités. La figure 5 montre une chromatographie des feuilles et des fruits de pêcher variété « May Flower », prélevés au moment de la véraison du fruit.

Conclusion

Les feuilles des pêchers ont une composition à peu près constante. Ce ne sont pas des organes en évolution. Leur poids, leurs sucres totaux, leur acidité varient peu. Cette acidité est essentiellement constituée par des substances acides indéterminées qui augmentent légèrement avec la maturation du fruit ; les acides malique et citrique qui les accompagnent jusqu'à la véraison du fruit, disparaissent ou persistent en faibles quantités à maturité.

Les fruits se développent, grossissent, accumulent des sucres et des acides. Mais, par suite de leur développement, il se produit, au cours de la maturation, un appauvrissement des tissus en acides ; ils sont brûlés par la respiration. L'acide malique est le plus important, accompagné de quantités plus faibles d'acide citrique et d'acides inconnus. Si l'on considère la teneur propre des tissus en ces acides, on constate qu'au cours de la maturation, l'acide malique varie peu, la combustion respiratoire porte surtout sur l'acide citrique.

ÉTUDE DU PRUNIER

(*Prunus domestica*)

Notre étude a porté sur des pruniers provenant de Caudéran, aux alentours de Bordeaux. Nous avons examiné deux variétés : la variété « Reine Claude hâtive » et la variété « Bonne de Bry ».

Nous avons étudié la variation du poids des feuilles et des fruits, de leur *p*H, de leurs sucres totaux et de l'acidité de titration en fonction de la maturation du fruit. Nous avons déterminé la nature et le taux des divers acides organiques. Nous avons rapporté les résultats à un organe et à 100 g d'organes.

Le tableau VI montre que le poids des feuilles varie peu. Celles de la variété « Bonne de Bry » pèsent environ 0,30 g. Celles de la variété « Reine Claude hâtive » pèsent le double avec une augmentation passagère au moment de la véraison. Les fruits augmentent de poids, grossissent et se développent surtout jusqu'à la véraison. De la véraison à la maturité, l'augmentation de poids est faible.

De même que pour les autres fruits, les sucres totaux de la feuille varient peu. Les variations sont faibles et sans importance. D'ailleurs dans la variété « Reine Claude hâtive » ils passent par un maximum peu accentué au moment de la véraison, alors que dans la variété « Bonne de Bry » ils passent à ce moment-là par un minimum. Les fruits accumulent des sucres surtout avant la véraison. Les deux variétés étudiées se comportent différemment. Les fruits de la variété « Reine Claude hâtive » accumu-

lent des sucres jusqu'à la maturité. Cette accumulation se traduit par un enrichissement des tissus ; le taux de sucres pour 100 g de fruits augmente. Cette augmentation est surtout importante jusqu'à la véraison, mais elle se continue ensuite. Les fruits de la variété « Bonne de Bry » cessent d'accumuler les sucres au moment de la véraison. Le grossissement du fruit après cette période provoque une diminution du taux des sucres rapporté à 100 g d'organes.

TABLEAU VI

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à un organe
— » » » » II » » à 100 grammes d'organes frais

Origine : Caudéran
Année : 1953

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
										χ	Acide malique		Acide citrique	
					I	II		I	II		I	II	I	II
27.V	Reine Claude hâtive	Feuille	Vert	0,66	0,0068	1,03	4,3	0,060	9,09	+	0,011	1,66	—	—
16.VII	»	»	Véraison	1,1	0,0075	0,681	4,3	0,056	5,09	+	—	—	—	—
4.VIII	»	»	Mûr	0,63	0,0063	1	4,1	0,0333	5,285	+	—	—	—	—
27.V	Reine Claude hâtive	Fruit	Vert	6,7	0,0194	0,289	2,8	0,765	11,41	+	0,312	4,65	—	—
16.VII	»	»	Véraison	25	0,506	2,02	2,7	2,786	11,14	+	2,120	8,48	—	—
4.VIII	»	»	Mûr	27,5	0,800	2,91	2,9	1,84	6,69	+	1,640	5,96	—	—
27.V	Bonne de Bry	Feuille	Vert	0,32	0,0041	1,28	4,8	0,0207	6,468	+	0,0025	0,79	0,0012	0,39
9.VII	»	»	Véraison	0,33	0,0031	0,939	4,8	0,0186	5,63	+	—	—	0,0019	0,57
16.VIII	»	»	Mûr	0,30	0,0036	1.200	5	0,0160	5,33	-	—	—	—	—
27.V	Bonne de Bry	Fruit	Vert	5,8	0,0176	0,303	2,6	1,261	21,74	+	1,242	21,41	—	—
9.VII	»	»	Véraison	12	0,2560	2,13	2,4	1,600	13,33	+	1,470	12,25	—	—
16.VII	»	»	Mûr	16	0,2350	1,46	2,4	1,760	11	+	1,725	10,78	—	—

Le *p*H des feuilles est presque constant. Les feuilles de la variété « Reine Claude hâtive » sont les plus acides. Les fruits de même ont un *p*H qui varie peu, mais ici ce sont ceux de la variété « Bonne de Bry » qui sont les plus

acides. L'acidité de titration des feuilles est peu variable. Elle diminue légèrement au cours de la maturation du fruit, tant au point de vue de la quantité contenue dans une feuille que du taux rapporté à 100 g de feuille. Les fruits ne paraissent pas évoluer pareillement suivant que l'on considère l'acidité de titration rapportée à un fruit ou à 100 g de fruits. Si l'on rapporte les résultats à un fruit moyen, l'acidité semble augmenter nettement jusqu'à la véraison ; à partir de la véraison, elle se stabilise pour la variété « Bonne de Bry » et diminue légèrement pour la variété « Reine Claude hâtive ». Par contre, lorsque l'on rapporte les résultats à 100 g d'organes, on constate que l'acidité de titration diminue au cours de la maturation. Maxima quand le fruit est vert, elle diminue de façon régulière jusqu'à la maturation pour la variété « Bonne de Bry » ; pour la variété « Reine Claude hâtive », la chute de l'acidité se manifeste surtout après la véraison.

La nature de cette acidité varie en fonction de l'organe et de l'état de maturité. Pour les feuilles elle est essentiellement constituée par ces mêmes substances inconnues dont nous avons pu déterminer les caractéristiques indiquées pour les fruits déjà étudiés. Dans la variété « Reine Claude hâtive », les feuilles, au moment où le fruit est encore vert, renferment également de petites quantités d'acide malique. Celles de la variété « Bonne de Bry » contiennent au même moment de petites quantités d'acide malique et d'acide citrique ; au moment de la véraison, on trouve seulement, à côté des substances X, de l'acide citrique. L'acide le plus important des fruits est l'acide malique. Cet acide est, à tous les stades de la maturation, pour les deux variétés étudiées, accompagné de petites quantités de substances X. Si l'on rapporte les résultats à un organe, on constate pour la variété « Reine Claude hâtive » une accumulation jusqu'à la véraison, puis une légère diminution. Pour la variété « Bonne de Bry », une légère et continuelle accumulation se produit. Mais, si l'on

rapporte les résultats à 100 g d'organes, on constate que de façon générale l'acide malique diminue au cours de la maturation. Il est brûlé par la combustion respiratoire. Pour la variété « Reine Claude hâtive », l'acide malique passe par un maximum au moment de la véraison. Pour la variété « Bonne de Bry », l'acide malique a déjà commencé à diminuer à la véraison.

Conclusion

Les feuilles des pruniers ont une composition qui varie peu. Le poids d'une feuille, les sucres totaux, le *p*H sont à peu près constants. Par contre, l'acidité de titration diminue légèrement au cours de la maturation ; elle est essentiellement constituée par des substances acides indéterminées accompagnées, avant la véraison du fruit, de petites quantités d'acide malique et quelquefois d'acide citrique.

Les fruits se développent, grossissent, accumulent des sucres jusqu'à la maturité. L'acidité de titration rapportée à 100 g d'organes frais diminue, ce qui montre bien que les acides sont brûlés au cours de la maturation. C'est sur l'acide malique que portent ces variations, acide important des prunes, toujours accompagné de petites quantités d'acides inconnus.

ÉTUDE DU POIRIER

(*Pyrus communis*)

Notre étude a porté sur des poiriers provenant de Caudéran, aux alentours de Bordeaux. Nous avons examiné deux variétés : la variété « Marguerite Marillat » et la variété « Sainte Anne ».

Nous avons étudié la variation du poids des feuilles et des fruits, de leur *p*H, de leurs sucres totaux et de l'acidité de titration en fonction de la maturation du fruit. Nous avons déterminé la nature et le taux des différents acides organiques. Nous avons rapporté les résultats à un organe, et à 100 g d'organes.

Le tableau VII montre que les fruits grossissent, augmentent de poids alors que les feuilles varient peu. Les fruits de la variété « Marguerite Marillat » sont plus gros que ceux de la variété « Sainte Anne ».

Les sucres totaux des feuilles subissent peu de variations. Pour les feuilles de la variété « Marguerite Marillat », les sucres totaux d'une feuille passent par un maximum à la véraison puis diminuent légèrement. Pour celles de la variété « Sainte Anne » on observe, au moment de la véraison, un minimum peu accentué. Par suite de la constance de poids des feuilles, les mêmes variations se produisent lorsque l'on rapporte les résultats à 100 g d'organes.

TABLEAU VII

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à un organe
— » » » » II » » à 100 grammes d'organes frais

Origine : Caudéran
Année : 1953

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
										χ	Acide malique		Acide citrique	
					I	II		I	II		I	II	I	II
12.VI	Marguerite Marillat	Feuille	Vert	0,65	0,0045	0,692	5	0,0275	4,23	+	0,009	1,38	0,004	0,61
30.VII	»	»	Véraison	0,71	0,0084	1,183	5	0,0304	4,28	+	0,011	1,55	—	—
8.VIII	»	»	Mûr	0,72	0,0076	1,055	5,1	0,0342	4,75	+	0,007	0,972	—	—
12.VI	Marguerite Marillat	Fruit	Vert	40	0,100	0,250	3,8	0,562	1,405	+	0,407	1,017	—	—
30.VII	»	»	Véraison	205	3,975	1,939	3,5	2,285	1,114	+	2,012	0,981	—	—
8.VIII	»	»	Mûr	260	5,135	1,975	3,7	2,542	0,977	+	2,486	0,956	—	—
12.VI	Ste Anne	Feuille	Vert	0,36	0,004	1,111	5,1	0,018	5	+	—	—	—	—
16.VII	»	»	Véraison	0,33	0,0024	0,727	5,6	0,0106	3,21	+	—	—	0,0016	0,484
4.VIII	»	»	Mûr	0,23	0,0048	2,086	5,1	0,0186	8,086	+	0,0041	1,78	0,0038	1,65
12.VI	Ste Anne	Fruit	Vert	19	0,040	0,210	3,3	0,325	1,71	+	0,246	1,294	—	—
16.VII	»	»	Véraison	70	0,800	1,142	3,6	1,600	2,28	+	1,58	2,257	0,18	0,257
4.VIII	»	»	Mûr	112	4,69	4,187	3,5	2,64	2,357	+	2,15	1,919	0,28	0,25

Les fruits accumulent des sucres au cours de leur développement et de la maturation. Cette accumulation est progressive et correspond à un enrichissement des tissus, comme le montrent les valeurs rapportées à 100 g d'organes. Pour la variété « Marguerite Marillat », cet enrichissement se produit surtout avant la véraison ; pour la variété « Sainte Anne », il se poursuit régulièrement jusqu'à la maturité du fruit.

Le *p*H des feuilles et des fruits varie peu. Aux alentours de 5 pour les feuilles et de 3,5 pour les fruits ; il est peu différent lorsque le fruit est vert et lorsqu'il est mûr. Cette constance du *p*H correspond à une acidité de titration peu variable lorsqu'on la rapporte à 100 g d'organes.

On observe seulement une diminution légère au cours de la maturation des fruits de la variété « Marguerite Marillat ». Les feuilles de la variété « Sainte Anne » subissent des variations notables et irrégulières. Lorsque l'on rapporte les résultats à un organe, les variations sont différentes. L'acidité de titration varie peu dans les feuilles ; nous avons vu qu'elles étaient des organes qui n'évoluent pas au cours de la maturation du fruit. L'acidité de titration des fruits, au contraire, augmente de façon importante. Par suite du développement et du grossissement du fruit, il se produit une accumulation des acides, surtout marquée avant la véraison.

Le tableau VII montre que, dans les feuilles, des substances acides indéterminées dominent. Dans les feuilles de la variété « Marguerite Marillat », l'acide malique accompagne ces substances X à tous les stades de la maturation du fruit en quantités plus faibles mais cependant notables. Lorsque le fruit est vert, les feuilles renferment également de petites quantités d'acide citrique. Pour la variété « Sainte Anne », les substances X représentent essentiellement les acides des feuilles. Au moment de la véraison du fruit, ils sont accompagnés de petites quantités d'acide citrique, auquel viennent s'ajouter des quantités faibles d'acide malique à la maturité du fruit. C'est l'acide malique qui représente l'acide le plus important des fruits. Son taux dans une poire augmente au cours du développement et de la maturation. Son pourcentage pour 100 g d'organes varie peu. L'acidité ne diminue donc pas au cours de la maturation. Cet acide est toujours accompagné de substances acides inconnues en petites quantités à tous les stades de la maturation. Les fruits de la variété « Marguerite Marillat » ne contiennent pas d'acide citrique, mais cet acide a été trouvé dans ceux de la variété « Sainte Anne » à partir de la véraison. Il existe en quantités faibles et un peu plus importantes à la maturité. La figure 6 montre une chromatographie

de feuilles et de fruit de poirier variété « Marguerite Marillat », prélevés lorsque le fruit était encore vert.

Fig. 6.

Poirier variété « Marguerite Marillat ».

Fruit encore vert.

47 : feuilles;
48 : fruits;
T : acides tartrique, citrique, malique, malonique, succinique.

Conclusion

Les feuilles du poirier sont, comme celles des autres fruits en général, des organes stables. Elles ne grossissent pas au cours du développement du fruit. Leurs sucres totaux et leur acidité sont à peu près constants. Cette acidité est pour la majeure partie représentée par des substances indéterminées, accompagnées le plus souvent de quantités notables d'acide malique et quelquefois de petites quantités d'acide citrique.

Les fruits grossissent, se développent considérablement, accumulent des sucres et des acides. Cette accumulation des acides n'est due qu'au développement du fruit, car l'acidité de titration rapportée à 100 g d'organes varie peu. Elle est représentée surtout par de l'acide malique, accompagné de faibles quantités, à peu près constantes, d'acides inconnus et quelquefois de petites quantités d'acide citrique.

ÉTUDE DE LA VIGNE

(*Vitis vinifera*)

De même que nous venons de le faire pour divers arbres fruitiers, nous avons voulu appliquer nos méthodes à l'étude de la vigne. L'importance des acides organiques dans son évolution n'avait pas échappé aux auteurs, qui ont cherché à en déterminer les variations au cours de la formation et de la maturation du raisin. Nous en avons fait une étude plus approfondie que pour les autres arbres fruitiers et avons envisagé cinq cépages : Cabernet, Malbec, Merlot, Sémillon et Sauvignon, provenant de Castillon, en Gironde. Outre l'évolution des acides, nous avons noté les variations du poids des feuilles et des baies, ainsi que celles des sucres totaux. Nous avons rapporté les résultats à un organe et à 100 g d'organes. Dans les tableaux VIII, IX, X, XI et XII, qui contiennent nos résultats, les valeurs des colonnes I sont celles rapportées à un organe, feuille ou baie ; celles des colonnes II sont celles rapportées à 100 g d'organes frais. Tous les prélèvements ont été effectués au cours de l'année 1953.

Nous allons étudier tout d'abord l'évolution des feuilles et des raisins au cours de la maturation de ces derniers.

Nous essayerons de voir ensuite quelle est l'influence du *Botrytis cinerea* sur les acides organiques des cépages nobles des grands vins blancs, et comparerons son action à celle des *Penicillum*.

Nous envisagerons le cas de l'acide citrique, acide que

nous n'avons que rarement trouvé dans la vigne et d'une façon très variable.

Enfin, nous essayerons de voir quelle est la nature des acides organiques dans les vins nouveaux.

EVOLUTION DES FEUILLES ET DES FRUITS AU COURS DE LA MATURATION

Notre étude a porté sur les cinq cépages suivants : Merlot, Cabernet, Malbec, Sémillon et Sauvignon. Nous allons les envisager séparément. Nous les comparerons ensuite et nous essayerons d'en tirer des notions générales sur l'évolution de la vigne.

1° Le tableau VIII donne les résultats obtenus avec le Merlot. Le poids des feuilles passe par un maximum à la véraison du fruit puis rediminue ; de même les sucres totaux sont à peu près constants jusqu'à la véraison ; ils augmentent quand le raisin commence à mûrir puis rediminuent. Par contre, la baie de raisin grossit, augmente de poids, elle accumule des sucres surtout après la véraison ; cette accumulation est due non seulement à un emmagasinement par suite de la formation de nouveaux tissus, mais également à un enrichissement propre de ces tissus.

Le *p*H des feuilles est à peu près constant ; par contre l'acidité de titration diminue avec la maturation. Il en est de même pour la baie de raisin, dont l'acidité de titration diminue de façon importante à partir de la véraison et jusqu'à la maturité. Le *p*H également passe par un maximum à la véraison et augmente par la suite.

Les acides de la feuille sont constitués jusqu'à la véraison par de l'acide tartrique surtout accompagné d'acide malique et de substances acides inconnues. A partir de la véraison, les substances X disparaissent et on ne trouve plus que de l'acide tartrique, qui prédomine, accompagné

TABLEAU VIII

Evolution des acides organiques chez la Vigne (**Vitis vinifera**) au cours de la maturation du fruit

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
					I	II		I	II	%	Acide tartrique I	Acide tartrique II	Acide malique I	Acide malique II
10.VII	Merlot	Feuille	Vert	2	0,0400	2	3,2	0,3400	17,000	+	0,2445	12,225	0,0978	4,890
8.VIII	»	»	Véraison	2,80	0,0512	1,8285	3,4	0,2880	10,285	+	0,1872	6,685	0,0585	2,089
1.IX	»	»	↓	1,80	0,0467	2,5944	3,4	0,2720	15,111	—	0,1800	10	0,1204	6,688
18.IX	»	»	Mûr	1,40	0,0285	2,0357	3,3	0,1300	9,285	—	0,0841	6,007	0,0504	3,600
10.VII	Merlot	Fruit	Vert	0,52	0,0017	0,3269	2,1	0,1200	23,070	—	0,0610	11,730	0,0610	11,730
8.VIII	»	»	Véraison	1,20	0,0256	2,1333	1,9	0,3320	27,666	—	0,1456	12,133	0,2184	18,200
1.IX	»	»	↓	1,32	0,0731	5,5378	2,5	0,1020	9,090	—	0,0700	5,303	0,0420	3,182
18.IX	»	»	Mûr	1,76	0,2321	13,1870	3,2	0,1120	6,363	—	0,0985	5,596	0,0246	1,397

Année : 1953 — Origine : Caudéran

de quantités notoires d'acide malique. Dans le raisin les variations sont différentes. Nous avons toujours trouvé uniquement de l'acide tartrique et de l'acide malique. Jusqu'à la véraison ces deux acides augmentent ; l'acide malique est plus important que l'acide tartrique. Mais après la véraison, l'acidité va diminuer ; cette diminution va porter un peu sur l'acide tartrique, dont la proportion va s'abaisser de moitié jusqu'à la maturité, mais surtout sur l'acide malique, dont la concentration subit une chute importante ; il va passer de 18,2000 méq le 8 août à 1,3977 méq le 18 septembre, pour 100 g de baies.

2° Le tableau IX donne les résultats obtenus avec le Cabernet. Le poids des feuilles passe par un maximum au moment de la véraison, ainsi que la teneur en sucres totaux. Puis ces valeurs diminuent, avec cependant une tendance à une légère augmentation au moment de la maturité du fruit. Par contre le fruit grossit, augmente de poids et accumule des sucres.

TABLEAU IX

Evolution des acides organiques chez la Vigne **(Vitis vinifera)** au cours de la maturation du fruit

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalen				
											Acide tartrique		Acide malique	
					I	II		I	II	χ	I	II	I	I
10.VII	Cabernet	Feuille	Vert	2,20	0,0320	1,4545	3,3	0,3360	15,272	+	0,2625	11,931	0,0700	3,
8.VIII	»	»	Véraison	2,40	0,0337	1,4041	3,5	0,3800	15,833	+	0,2170	9,041	0,1240	5,
1.IX	»	»	↓	1,33	0,0152	1,1428	4	0,1860	13,984	+	0,0816	6,135	0,0979	7,
18.IX	»	»	Mûr	1,62	0,0228	1,4074	3,4	0,2000	12,345	—	0,1222	7,543	0,0999	6,
10.VII	Cabernet	Fruit	Vert	0,50	0,0017	0,3400	2,1	0,1360	27,200	—	0,0740	14,800	0,0710	14,
8.VIII	»	»	Véraison	0,84	0,0320	3,8090	1,9	0,2300	27,380	—	0,0880	10,476	0,1760	20,
1.IX	»	»	↓	1,28	0,0731	5,7109	2,6	0,0864	6,750	—	0,0678	5,296	0,0282	2,
18.IX	»	»	Mûr	1,24	0,1776	14,3220	3	0,0800	6,451	—	0,0463	3,733	0,0450	3,
10.VII	Malbec	Feuille	Vert	1,43	0,0326	2,2797	3,4	0,3200	22,377	+	0,1905	13,321	0,1270	8,
8.VIII	»	»	Véraison	2,40	0,0336	1,4000	3,5	0,1920	8	+	0,1056	4,400	0,0660	2,
1.IX	»	»	↓	1	0,0228	2,2800	4	0,1600	16	+	0,0855	8,550	0,0684	6,
18.IX	»	»	Mûr	1,22	0,0273	2,2377	3,3	0,1688	13,836	—	0,0968	7,934	0,0807	6,
10.VII	Malbec	Fruit	Vert	0,66	0,0018	0,2727	2,1	0,1440	21,810	—	0,0810	12,272	0,0780	11,
8.VIII	»	»	Véraison	1,28	0,0241	1,8828	1,8	0,4160	32,500	—	0,1510	11,796	0,3040	23,
1.IX	»	»	↓	2,72	0,1066	5,9190	2,3	0,1720	6,323	—	0,0965	3,543	0,0925	3,
18.IX	»	»	Mûr	2,25	0,3114	13,8420	3,4	0,1120	5,600	—	0,0984	4,920	0,0246	1,

Année : 1953 — Origine : Caudéran

Le *p*H des feuilles augmente jusque vers le 1er septembre, puis il diminue jusqu'à la maturité à des valeurs égales à celles du mois de juillet. L'acidité de titration passe par un maximum à la véraison ; puis elle diminue. Pour les raisins, le *p*H passe par un maximum à la véraison, puis augmente régulièrement jusqu'à la maturité. Parallèlement, l'acidité de titration passe par un maximum à la véraison, puis diminue jusqu'à la maturité.

Comme pour le Merlot, les acides de la feuille sont constitués, quand le grain est encore vert, d'acide tartrique qui prédomine, de quantités importantes d'acide malique et de substances acides inconnues, mais en quantités beaucoup plus faibles. Quand l'acidité diminue, c'est surtout sur l'acide tartrique et sur l'acide malique que ce phénomène se porte. Quant aux acides indéterminés, ils passent par un maximum à la véraison, pour disparaître à la maturité. Dans le fruit on ne trouve que de l'acide tartrique et de l'acide malique. A la véraison l'acide malique prédomine de façon importante alors que dans le raisin vert ces acides sont en quantités à peu près égales. Mais pendant la maturation, c'est surtout l'acide malique qui diminue ; l'acide tartrique est beaucoup moins touché.

3° Le tableau IX donne également les résultats avec le cépage « Malbec ». Pour le développement des feuilles et leur teneur en sucres totaux, on trouve des résultats identiques à ceux du « Cabernet ». Le poids passe par un maximum à la véraison pour diminuer de façon nette ; les sucres totaux aussi diminuent dans une feuille de la véraison à la maturité, mais en rapportant les résultats à 100 g d'organes, on constate que le taux des sucres varie peu et passe au contraire par un minimum à la véraison. Les baies de raisin grossissent au cours de la maturation et accumulent des sucres.

Le *p*H des feuilles subit la même variation que chez le Cabernet, mais par contre l'acidité de titration diminue avant la véraison pour se maintenir à peu près constante par la suite. Dans les baies, l'acidité de titration passe par un maximum à la véraison et diminue jusqu'à la maturité. Le *p*H, inversement, passe par un minimum à la véraison et augmente jusqu'à la maturité.

La nature, les proportions respectives et les variations des divers acides organiques des feuilles du cépage « Malbec » sont à peu près les mêmes que celles du cépage

« Cabernet ». L'acide tartrique domine, l'acide malique est important, les substances acides X sont en petites quantités. Celles-ci disparaissent avant la maturité du fruit. Les acides tartrique et malique diminuent jusqu'à la véraison dans des proportions semblables, pour se maintenir à peu près identiques par la suite. Dans les fruits, les acides tartrique et malique sont équivalents et seuls présents. A la véraison, l'acide malique est devenu deux fois plus important que l'acide tartrique, mais au cours de la maturation, c'est surtout sur l'acide malique que portent les combustions respiratoires ; l'acide tartrique est beaucoup moins touché et devient l'acide le plus important.

4° Dans le tableau X nous trouvons les résultats obtenus avec le cépage « Sémillon ». Les feuilles de ce cépage sont beaucoup plus grosses que celles des autres cépages ; leur poids est maximum à la véraison ; les sucres totaux sont peu variables. Les baies grossissent et sont également plus grosses que celles des autres cépages ; elles accumulent des sucres jusqu'à la maturité.

Le *p*H des feuilles passe par un minimum à la véraison et s'élève par la suite jusqu'à la maturité du fruit ; l'acidité de titration, au contraire, diminue à partir de la véraison. Mais ces variations sont faibles. Dans le grain, on retrouve les mêmes variations avec une intensité beaucoup plus grande. L'acidité de titration en particulier diminue dans des proportions très importantes.

Comme nous l'avons montré pour les cépages rouges, les acides des feuilles sont représentés par des acides inconnus, en petites quantités, qui ont disparu au moment de la maturité du fruit, de l'acide tartrique et de l'acide malique. Lorsque le fruit est vert, c'est l'acide tartrique qui domine dans les feuilles. A partir de la véraison, il diminue, de même que l'acide malique, et les proportions relatives de ces deux acides sont conservées. Dans les fruits, les substances X sont absentes ; l'acide malique est

le plus important. Les acides tartrique et malique augmentent jusqu'à la véraison, puis diminuent de la véraison à la maturité. Cette chute est particulièrement importante pour l'acide malique.

TABLEAU X

Evolution des acides organiques chez la Vigne **(Vitis vinifera)** au cours de la maturation du fruit

Date	Variété	Organe	Etat de maturité du fruit	Poids d'un organe en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents				
										%	Acide tartrique		Acide malique	
					I	II		I	II		I	II	I	II
10.VII	Sémillon	Feuille	Vert	2,60	0,0426	1,6383	3,1	0,5600	21,538	+	0,3502	13,469	0,2060	7,923
8.VIII	»	»	Véraison	3,60	0,0485	1,3472	2,8	0,5270	14,638	+	0,2898	8,050	0,1656	4,600
1.IX	»	»	↓	2,50	0,0512	2,0480	3,2	0,4400	17,600	+	0,2955	11,820	0,1576	6,304
18.IX	»	»	Mûr	3,25	0,0500	1,5384	3,5	0,3600	11,076	—	0,2064	6,350	0,1376	4,233
10.VII	Sémillon	Fruit	Vert	1	0,0042	0,420	2	0,2346	23,460	—	0,0960	9,600	0,1600	16
8.VIII	»	»	Véraison	1,68	0,0241	1,434	1,7	0,4480	26,666	—	0,1640	9,761	0,3290	19,583
1.IX	»	»	↓	2,04	0,1261	6,181	2,4	0,1150	5,637	—	0,0803	3,936	0,0365	1,789
18.IX	»	»	Mûr	2,52	0,3572	14,178	3,2	0,1322	5,249	—	0,0879	3,490	0,0468	1,859
10.VII	Sauvignon	Feuille	Vert	2	0,0304	1,520	3,1	0,3770	18,850		0,1056	5,280	0,2640	13,200
14.VIII	»	»	Véraison	2,20	0,0284	1,291	3,6	0,2080	9,454	+	0,1216	5,527	0,0608	2,763
1.IX	»	»	↓	1,65	0,0205	1,242	3,8	0,1730	10,484	+	0,0961	5,824	0,0601	3,642
24.IX	»	»	Mûr	2,40	0,0284	1,183	3,8	0,2080	8,666	—	0,1905	7,937	0,0381	1,587
10.VII	Sauvignon	Fruit	Vert	0,44	0,0017	0,386	2,1	0,1088	24,720	—	0,0584	13,272	0,0605	13,750
14.VIII	»	»	Véraison	0,84	0,0114	1,357	1,8	0,2880	34,280	—	0,1140	13,571	0,1900	22,610
1.IX	»	»	↓	1,68	0,1066	6,351	2,4	0,1210	7,202	—	0,0880	5,238	0,0445	2,648
24.IX	»	»	Mûr	1,48	0,2149	14,527	3,3	0,0683	4,621	—	0,0726	4,908	0,0110	0,744

Année : 1953 — Origine : Caudéran

5° Les résultats obtenus avec le cépage « Sauvignon » sont contenus dans le tableau X. Le poids des feuilles est peu variable, de même que la teneur en sucres totaux. Le grain grossit et accumule des sucres au cours de la maturation. Le *p*H des feuilles et des fruits augmente,

alors que l'acidité de titration diminue au cours de cette maturation. Mais les phénomènes des fruits sont beaucoup plus intenses que ceux des feuilles.

Quant à la nature des acides des feuilles de Sauvignon, elle est la même que celle des autres cépages : substances acides inconnues, acide tartrique et acide malique. Les acides inconnus ont disparu à la maturité du fruit. Lorsque le fruit est vert, l'acide malique est important et prédomine, mais il a diminué énormément à la véraison ; il est devenu moins important que l'acide tartrique, qui reste peu variable. Dans la baie du raisin, les acides tartrique et malique sont à peu près équivalents quand le fruit est

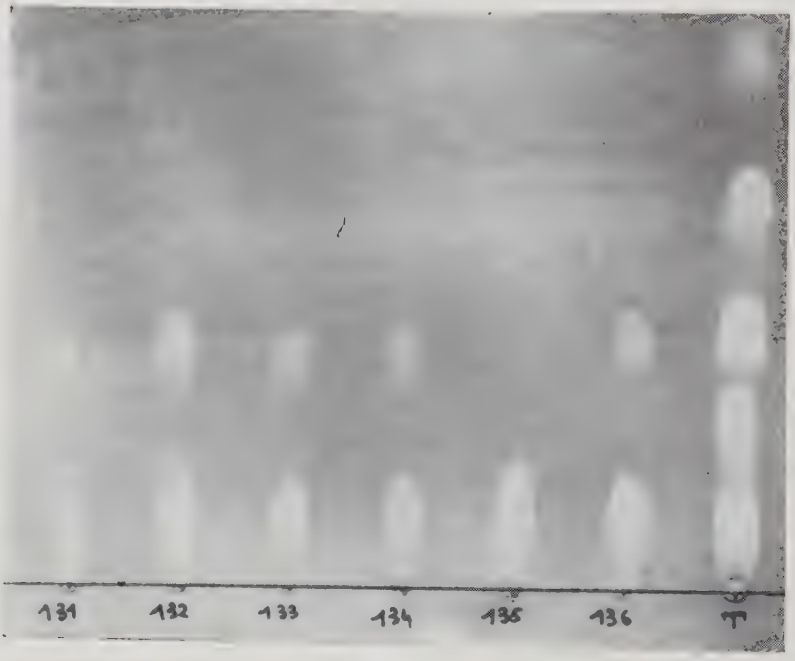

Fig. 7.

Jus de raisins mûrs.

131 : Merlot;
132 : Cabernet;
133 : Malbec;
134 : Muscat noir;
135 : Chasselas blanc;
136 : mélange des cinq cépages précédents;
T : acides tartrique, citrique, malique, malonique, succinique.

vert. A la véraison, l'acide malique est le plus important. Mais au cours de la maturation, il diminue dans des proportions considérables, alors que l'acide tartrique est peu touché.

La figure 7 montre une chromatographie de jus de raisins mûrs de divers cépages.

Conclusion

Si l'on compare entre eux les différents cépages que nous venons d'étudier, on constate qu'ils se comportent à peu près de façon semblable.

Les feuilles de vigne sont des organes qui évoluent peu. Leur poids est à peu près constant avec cependant un léger maximum au moment de la véraison du fruit. Les sucres totaux ont en général une valeur maximum dans les premiers temps de la maturation qui suivent la véraison ; c'est en effet à ce moment-là que la feuille doit fabriquer beaucoup de glucides pour alimenter le grain qui mûrit. A partir de cette période, le *p*H et l'acidité de titration diminuent, car la feuille, qui est plus active à ce moment-là, doit avoir également des combustions respiratoires plus intenses. Cette acidité est constituée en grande partie par de l'acide tartrique et de l'acide malique avec prédominance de l'acide tartrique. On trouve aussi de petites quantités d'acides inconnus qui disparaissent complètement avant la maturité du fruit.

Les phénomènes qui se passent dans les baies de raisin sont beaucoup plus importants. Augmentation de poids, accumulation de sucres, diminution de l'acidité de titration avec élévation correspondante du *p*H sont les phénomènes essentiels. La nature de l'acidité est constituée uniquement par les acides tartrique et malique. Leur proportion varie avec l'état de maturité du fruit. Quand celui-ci est vert, ils sont en proportions équivalentes. A la véraison, l'acide malique domine de façon importante. Mais, au cours de la maturation, alors que l'acide tartrique

varie peu, l'acide malique est brûlé en grosses proportions et ne se trouvent dans le fruit mûr qu'en faibles quantités. En somme, l'acide tartrique varie peu, alors que l'acide malique subit des variations très importantes ; c'est bien lui qui conditionne l'acidité des raisins et leur état de maturité, soit : une augmentation de l'acidité jusqu'à la véraison et une diminution de cette acidité de la véraison à la maturité.

EVOLUTION DES ACIDES ORGANIQUES DU RAISIN SOUS L'ACTION DU *BOTRYTIS CINEREA*

Sous l'influence du *Botrytis cinerea* on observe des modifications intéressantes dans l'évolution organique des baies de raisin. Le tableau XI montre qu'au cours de l'action de ce champignon, il se produit des variations dans la teneur en sucres et en acides.

Le poids des baies diminue dans le deuxième stade de cette action, c'est-à-dire quand le grain « pourri plein » se transforme en grain « rôti » ; il perd de l'eau. (On dit qu'un grain est « pourri plein » lorsqu'au début de l'action du *Botrytis cinerea* la peau s'est amincie, est devenue brune, alors que le grain est gorgé de jus. Par contre le grain est « rôti » lorsque cette eau s'est évaporée et que le grain commence à se ratatiner.) Les sucres totaux contenus dans cette baie diminuent lorsque le grain tend vers la forme « rôti », et augmentent légèrement lorsque le grain mûr tend vers la forme « pourri plein ». Ces modifications sont liées aux variations de poids ; si on rapporte, en effet, les résultats à 100 g de baies, on constate un enrichissement constant des tissus en sucres. Il semble qu'il y a accumulation de sucres jusqu'à ce que le grain soit « pourri plein » ; mais à partir de ce stade, l'augmentation des glucides est due seulement à une concentration de ces derniers par élimination d'eau.

L'acidité de titration subit également des modifications importantes. Quand le grain passe du stade « mûr » au

stade « pourri plein », elle varie peu, et semble subir une légère augmentation. Mais lorsque le grain devient « rôti » il se produit une diminution importante de l'acidité, ramenée à une baie. Il y a donc combustion des acides au cours de l'action du champignon. Ramenée à 100 g de baies, on constate que cette acidité n'a guère varié. La disparition des acides est donc compensée par la perte en eau et la vendange sera proportionnellement aussi riche en acides organiques libres lorsque le raisin sera « rôti » que lorsqu'il sera mûr. Par contre, le *p*H augmente régulièrement et de façon importante. Il semble bien qu'il y ait diminution de l'acidité ionique par apport important de bases du sol. Cette augmentation du *p*H et cette constance de l'acidité libre ne peuvent guère s'expliquer que si

TABLEAU XI

Evolution des acides organiques des raisins sous l'action du **Botrytis cinerea**

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à une baie
» » » » II » à 100 grammes de baies

Année 1953

Date	Variété	Origine	Etat de maturité	Poids d'une baie en grammes	Sucres totaux en grammes I	Sucres totaux en grammes II	pH	Acidité de titration en milliéquivalents I	Acidité de titration en milliéquivalents II	Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents — Acide tartrique I	Acide tartrique II	Acide malique I	Acide malique II
18 IX		Chât. Suduiraut (Sauternes)	Mûr	2,88	0,2560	8,888	3	0,1312	4,5550	0,1154	4,0060	0,0288	I
31 IX	Sémillon	—	Pourri plein	1,72	0,1828	10,627	3,2	0,0896	5,2093	0,0985	5,7255	—	—
8 X		—	Rôti	0,62	0,1113	17,951	3,6	0,0288	4,6461	0,0316	5,0967	—	—
18 IX		Chât. Suduiraut (Sauternes)	Mûr	1,96	0,1706	8,704	3	0,0992	5,0612	0,0981	5,0051	0,0165	0,8418
31 IX	Sauvignon	—	Pourri plein	2,08	0,2206	10,605	3,6	0,1120	5,3840	0,1190	5,7210	0,0029	0,1397
8 X		—	Rôti	0,92	0,1422	15,456	3,8	0,0448	4,8695	0,0497	5,4130	0,0011	0,1195
18 IX		Sainte-Croix du Mont	Mûr	2,20	0,2327	10,577	2,9	0,0988	4,4909	0,1078	4.9000	—	—
31 IX	Sémillon	—	Pourri plein	2,32	0,3659	15,771	3,5	0,1344	5,7930	0,1346	5,8010	0,0033	0,1422
8 X		—	Rôti	0,96	0,1828	19,041	3,7	0,0480	5	0,0515	5,3729	0,0012	0,1250
18 IX		Sainte-Croix du Mont	Mûr	1,84	0,1600	8,695	2,9	0,1040	5,6520	0,1144	6,2170	—	—
31 IX	Sauvignon	—	Pourri plein	2,04	0,1706	8,362	3,5	0,1344	6,5890	0,1468	7,1960	0,0036	0,1764
8 X		—	Rôti	0,82	0,0914	11,146	3,7	0,0512	6,2439	0,0542	6,6097	—	—

l'on admet que la neutralisation des fonctions acides est plus importante que la combustion de ces acides. Cette neutralisation doit porter sur les fonctions acides fortes et les fonctions acides plus faibles interviennent dans l'acidité ; par suite de leur concentration, elles maintiennent l'acidité de titration constante, alors que le *p*H augmente.

L'étude de la nature des acides organiques des baies va nous apporter des résultats intéressants. Elle est en majeure partie constituée par de l'acide tartrique. La teneur de cet acide rapportée à une baie diminue, mais rapportée à 100 g de baies, la teneur des anions tartriques augmente. Les raisins mûrs en sont moins riches que les raisins « rôtis » et surtout « pourris pleins ». Quant à l'acide malique, il est peu important. Dans le raisin mûr il n'existe qu'à très faible dose ou même, dans certains cas, il a complètement disparu. De toute façon, le tableau XI montre qu'il se trouve dans certains cépages, à certains moments, ou qu'il disparaît brusquement, mais n'occupe toujours qu'une place secondaire.

Conclusion

Sous l'influence du *Botrytis cinerea*, la baie de raisin subit des modifications importantes. Le poids diminue par perte d'eau. Les tissus s'enrichissent en sucres, le *p*H augmente par neutralisation des acides par les bases du sol. Par contre, l'acidité de titration est à peu près constante rapportée à un certain poids d'organes, donc de vendange ; elle est en majeure partie constituée par l'acide tartrique qui est brûlé par la respiration mais en quantité moins importante que la disparition d'eau, ce qui fait que la vendange en sera aussi riche quand les grains sont « rôtis » que lorsqu'ils sont mûrs. L'acide malique accompagne quelquefois l'acide tartrique, mais il est toujours en quantité très faible et ne joue pas un rôle important.

EVOLUTION DES ACIDES ORGANIQUES DU RAISIN SOUS L'ACTION DES *PENICILLUM*

L'étude de l'action des *Penicillum* dans l'évolution organique de la vigne, permet de se rendre compte que ces champignons provoquent des phénomènes différents de ceux du *Botrytis cinerea*. La composition différente des raisins, qui ont subi ces deux actions, est sans doute un des facteurs qui permet d'opposer les qualités de vendange provenant, l'une de la pourriture noble, et l'autre de la pourriture vulgaire. Le tableau XII montre, pour quelques cépages, l'influence de ces champignons, qui est néfaste comme chacun sait.

Le poids des baies diminue par perte d'eau. La teneur en sucres totaux diminue également dans chaque baie. Mais ici cette diminution est plus importante que dans le cas de l'action du *Botrytis cinerea*, et comme la perte d'eau est moins importante, au lieu d'avoir un enrichissement en sucres de la vendange comme dans ce dernier cas, on observe ici, au contraire, une faible mais notable diminution de la teneur en sucres rapportée à 100 g de baies, donc d'un poids donné de vendange.

Le *p*H est peu variable, mais avec une légère tendance à la diminution. Quant à l'acidité de titration, elle diminue si on la rapporte à une baie. Par contre, rapportée à 100 g de baies, elle est peu variable. Il faut en conclure que la disparition des acides, vraisemblablement par respiration, est compensée par la perte en eau et la vendange sera proportionnellement aussi riche en acides organiques libres lorsque le raisin sera « pourri » que lorsqu'il sera « mûr ». Mais, contrairement au cas précédent, la constance du *p*H montre qu'il n'y a pas neutralisation de ces acides par des bases.

L'étude de la nature des acides organiques des baies pourries nous conduit à admettre qu'elle est en grande

TABLEAU XII

Evolution des acides organiques des raisins sous l'action des **Penicillum**

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à une baie
— » » » » II » à 100 grammes de baies

Année 1953

Date	Variété	Origine	Etat de maturité	Poids d'une baie en grammes	Sucres totaux en grammes		pH	Acidité de titration en milliéquivalents		Anions organiques par chromatographie en milliéquivalents			
										Acide tartrique		Acide malique	
					I	II		I	II	I	II	I	II
13.X	Merlot	Latresne	Mûr	1,2	0,1024	8,533	3,4	0,0704	5,8666	0,0732	6,1000	—	—
4.XI			Pourri	1	0,0853	8,530	3,3	0,0480	4,8000	0,0539	5,3900	—	—
13.X	Cabernet	Latresne	Mûr	1	0,0882	8,820	3,5	0,0608	6,0800	0,0669	0,6900	—	—
4.XI			Pourri	0,64	0,0345	5,3906	3,4	0,0496	7,7500	0,0587	9,1718	—	—
13.X	Malbec	Latresne	Mûr	1,80	0,1242	6,900	3,2	0,1600	8,8888	0,1680	9,3333	0,0124	0,6888
4.XI			Pourri	1,28	0,0752	5,875	3,3	0,0800	6,2500	0,0789	6,1640	0,0164	1,2812
13.X	Muscat noir	Latresne	Mûr	3,60	0,2500	6,944	3,4	0,1344	3,7330	0,1488	4,1333	—	—
4.XI			Pourri	2,20	0,1422	6,4636	3,3	0,0920	4,1818	0,0897	4,0772	0,0184	0,8363
13.X	Chasselas	Latresne	Mûr	2,40	0,1600	6,666	3,6	0,0736	3,0666	0,0784	3,2666	—	—
4.XI			Pourri	1,46	0,1070	7,328	3,3	0,0508	3,4794	0,0597	4,0890	—	—

partie représentée par de l'acide tartrique. Souvent cet acide semble être le seul acide important des baies ; le tableau XII montre qu'il est quelquefois accompagné de petites quantités d'acide malique.

Conclusion

Sous l'influence des *Penicillum* la baie de raisin subit des modifications intéressantes et bien différentes de celles provoquées par le *Botrytis cinerea*. Le poids diminue par perte d'eau, mais les tissus s'appauvrissent quand même légèrement en sucres. Le *p*H ne varie pas, ce qui montre qu'il n'y a pas neutralisation des acides comme dans l'autre cas. Quant à l'acidité de titration, rapportée

à un poids donné de vendange, elle est à peu près constante, et en majeure partie constituée par de l'acide tartrique quelquefois accompagné d'acide malique, mais en quantités faibles.

L'ACIDE CITRIQUE DE LA VIGNE

L'existence de l'acide citrique dans les raisins semble avoir été établie par Blarez, Denigès et Gayon [40], et plus tard par Peynaud [1]. Par l'usage de sa méthode de dosage par oxydation, ce dernier veut avoir montré sa présence à des taux très faibles dans tous les raisins. Notre méthode ne nous permet pas de discuter ces affirmations, car sa sensibilité ne rend pas possible la détection de cet acide à des taux aussi discrets. Quoi qu'il en soit, elle nous a permis de constater que l'acide citrique n'existe jamais dans la vigne à un taux important. Le plus souvent nous n'avons pas pu le caractériser ; quelquefois nous l'avons trouvé sur nos cromatogrammes où il n'a jamais déterminé qu'une tache faible. Dans le tableau XIII nous avons noté les divers cas où nous l'avons caracté-

TABLEAU XIII

L'acide citrique dans la vigne

— Les valeurs des colonnes I sont rapportées à une baie — » » » » II » » à 100 grammes de baies — Année 1953

Date	Variété	Organe	Origine	Acide citrique en milliéquivalents I	Acide citrique en milliéquivalents II	Pourcentage par rapport à l'acidité totale
18.IX	Malbec	Feuille	Castillon	0,0080	0,6557	1/23
»	Cabernet	Fruit	»	0,0046	0,3709	1/19
»	Merlot	»	»	0,0084	0,6001	1/17
»	Sémillon	»	»	0,0172	0,5292	1.23
8.X	Sauvignon	»	Ch. Suduiraut	0,0011	0,1197	1.42
»	»	»	Ste Croix du Mont	0,0013	0,1585	1/41
»	Sémillon	»	»	0,0033	0,1422	1/42
13.X	Merlot	»	Latresne	0,0035	0,2916	1/32
»	Chasselas	»	»	0,0039	0,1625	1/32

risé. Nous avons noté sa teneur et nous avons établi le pourcentage de cet acide par rapport à l'acidité totale. Il ne semble pas que nous puissions tirer des conclusions intéressantes de ces résultats.

Conclusion

L'acide citrique ne semble jouer qu'un rôle très peu important dans la vigne, où nous l'avons quelquefois retrouvé.

***

ACIDES ORGANIQUES DES VINS NOUVEAUX

Ces techniques peuvent être également utilisées à l'étude des acides organiques des liquides de fermentation des jus sucrés. Après avoir déterminé quelle était la nature des acides organiques des raisins et leur évolution au cours de la maturation, nous avons appliqué nos méthodes à l'étude de quelques vins nouveaux, afin de déterminer l'importance respective des divers acides.

La connaissance de ces acides permet, en la comparant à la composition acidimétrique des raisins, de se faire une idée des modifications qui se sont produites au cours de la fermentation des jus sucrés, et d'autre part de prévoir les transformations possibles de ces vins au cours de la conservation sous l'influence de divers phénomènes.

Les méthodes seront les mêmes que celles que nous avons indiquées pour l'étude des feuilles et des fruits. Le vin devra, seulement, avant l'addition du sous-acétate de plomb, être privé d'alcool par ébullition. Mais il faut remarquer que le sel de plomb de l'acide lactique est soluble dans l'eau. Il en résulte que nous perdons cet acide au cours de la purification des jus.

Si cela ne présente aucune importance dans l'étude des feuilles et des fruits, cet acide étant un acide de fermentation, il en est tout autrement dans le vin. Nous effec-

tuons donc dans ce cas-là deux chromatographies : une avec le vin purifié qui nous donne tous les acides sauf l'acide lactique et les acides volatils, l'autre avec le vin pur qui nous donne l'acide lactique. La recherche de l'acide lactique par chromatographie directe du vin est possible, car cet acide se sépare bien des diverses substances gênantes du vin, en particulier les matières colorantes, qui empêchent la détermination directe des acides tartrique et malique.

Résultats

Le tableau XIV montre les résultats obtenus avec quelques vins nouveaux de l'année 1953, d'origines diverses : Saint-Emilion, Médoc, Côtes de Bordeaux.

Nous voyons que les vins ont un *p*H qui varie aux alentours de 3,5 et une acidité de titration qui se situe entre 65 et 100 milliéquivalents par litre en moyenne.

TABLEAU XIV

Nature des acides organiques des vins nouveaux

ORIGINE	Degré alcoolique	pH	Acidité de titration en méq/litre	Importance des anions organiques non volatils par chromatographie					
				Tartrique	Citrique	Malique	Lactique	Succinique	Indéterm.
Ch. Ausone - St-Emilion - 1er grand cru	12,1	3,5	82	++++	—	++	—	+	++
Ch. Bel-Air - St-Emilion - 1er grand cru	12,5	3,5	78	++++	—	++	—	+	++
Ch. Clos Fourtet - St-Emilion - 1er grand cru	11,7	3,5	91	++++	—	+	—	+	++
Ch. Pavie - St-Emilion - 1er grand cru	12,5	3,6	69	++++	—	—	—	+	++
Ch. du Sable - St-Emilion - App. contrôlée	12,5	3,6	63	++++	—	—	++	+	++
Ch. de la Mélissière - Saint-Emilion - App. contrôlée	12,5	3,7	68	++++	—	++	—	+	++
Ch. Mouton - Rothschild - Médoc - Grand 1er cru	11,6	3,6	85	++++	—	—	—	—	++
Cave coop. Pauillac - Médoc contrôlé	12,9	3,6	74	++++	—	—	++	—	++
Latresne - Bordeaux rouge, 1res côtes	10,1	3,4	86	++++	—	—	+	—	++
»	11,7	3,4	112	++++	++	++	—	++	++
»	9,4	3,5	96	++++	—	++	—	—	++
»	9,7	3,6	82	++++	—	+	-	—	++
»	10	3,5	80	++++	—	—	++	++	++

Cette acidité est constituée, pour la majeure partie, par de l'acide tartrique. Tous les vins étudiés sont riches en cet acide ; c'est lui qui détermine l'acidité des vins, et qui joue le rôle le plus important. A côté de l'acide tartrique on trouve dans tous les vins une petite mais notable quantité d'acides indéterminés possédant, avec les solvants utilisés, des Rf faibles, rassemblés au bas du chromatogramme sous forme d'une belle tache jaune ; ils doivent correspondre sûrement à un ensemble de substances acides secondaires résultant du processus complexe de la fermentation alcoolique ou des fermentations secondaires.

A côté de ces substances, que l'on trouve dans tous les vins, il existe d'autres acides à des taux beaucoup plus faibles, et dont la distribution est inconstante.

L'acide citrique n'a été trouvé à un taux relativement important que dans un seul vin provenant de Latresne.

L'acide malique semble persister dans les vins jeunes, mais en faibles quantités. Dans quelques vins son taux s'élève, comme le montre le tableau XIV, aux environs de 10 p. 100 de l'acidité totale. Quelquefois, nous n'avons pas pu le mettre en évidence par nos techniques qui permettent, comme nous l'avons vu, la détection d'un acide à un taux inférieur à 5 p. 100 de l'acidité totale. Il faut donc admettre que dans certains vins jeunes l'acide malique, s'il existe, n'est qu'à l'état de très petites quantités et ne peut y jouer un rôle important.

L'acide lactique n'est pas très répandu dans les vins nouveaux. Quelquefois seulement nous avons pu montrer sa présence à des taux variant sensiblement de 5 à 10 p. 100 de l'acidité totale.

L'acide succinique, au contraire, est très répandu dans les vins jeunes. Son taux se maintient aux environs de 5 p. 100 de l'acidité totale. Quelquefois, cependant, nous n'avons pas pu le mettre en évidence.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous nous étions proposé de définir la nature et les proportions respectives des substances acides dans les feuilles et les fruits de divers arbres fruitiers, d'en saisir les variations et les transformations au cours de leur développement par leur étude à des moments cruciaux du cycle végétatif. Mais il nous fallait, auparavant, une technique qui permette en même temps et sûrement la détection et, le cas échéant, le dosage de toutes les substances acides.

Les travaux récents sur la caractérisation des acides organiques par chromatographie de partage sur papier nous ont permis de reprendre cette question sur un plan tout à fait nouveau. Nous avons montré que la détermination des acides organiques par chromatographie est possible avec une erreur de 5 à 10 p. 100 près. Cette détermination est rapide, spécifique et sensible. Nous avons indiqué une méthode efficace de purification des extraits végétaux en vue de les soumettre à une étude chromatographique de leurs acides.

Notre étude a porté sur plusieurs plantes à fruits comestibles : fraisiers, groseilliers, cerisier, abricotier, pêcher, prunier, poirier et sur la vigne, d'une façon plus détaillée.

Nous avons montré que d'une façon générale les feuilles représentaient des organes en très faible évolution. Elles semblent jouer un rôle distributeur et se signalent par la faible variation de leur composition.

Par contre, les fruits grossissent, s'enrichissent en sucres.

Mais l'évolution de l'acidité et la nature des différents acides varient :

— Chez le *Fraisier,* les feuilles ne renferment que des acides indéterminés. Les fruits s'enrichissent en acides jusqu'à la maturité. L'acide citrique est l'acide essentiel, accompagné de petites quantités d'acide malique. Les acides inconnus du fruit disparaissent dès la véraison.

— Chez le *Groseillier,* les feuilles ne renferment que des acides indéterminés, accompagnés parfois d'acide citrique. Les fruits s'enrichissent en acide jusqu'à la maturité. L'acide citrique est l'acide essentiel, toujours accompagné d'acide malique dont la teneur diminue avec la maturation ; dans le fruit vert on trouve un peu d'acides inconnus.

— Chez le *Cerisier,* les feuilles renferment surtout des substances acides inconnues, accompagnées d'acides citrique et malique. Les fruits s'enrichissent en acides. L'acide malique est l'acide essentiel, toujours accompagné de ces acides non déterminés.

— Chez l'*Abricotier,* les feuilles ne renferment que des acides inconnus. Les fruits s'enrichissent en acides. Les acides malique et citrique y tiennent une place également importante. L'acide citrique s'accumule plus tardivement que l'acide malique. Dans le fruit vert on trouve des traces d'acides inconnus.

— Chez le *Pêcher,* les feuilles renferment des substances acides inconnues, accompagnées de faibles quantités d'acides malique et citrique. Les fruits subissent une diminution de l'acidité au cours de la maturation. L'acide malique est l'acide essentiel accompagné d'acide citrique en quantités notables et de petites quantités d'acides indéterminés. Mais les combustions respiratoires semblent porter sur l'acide citrique.

— Chez le *Prunier*, les feuilles renferment des acides indéterminés, quelquefois accompagnés d'acides malique et citrique. L'acidité des fruits diminue au cours de la maturation ; c'est sur l'acide malique que porte cette diminution. Il est toujours accompagné de petites quantités d'acides inconnus.

— Chez le *Poirier*, les feuilles renferment surtout des substances acides inconnues, accompagnées de quantités notables d'acide malique et de faibles quantités d'acide citrique. Les fruits s'enrichissent en acide au cours de la maturation. L'acide malique est l'acide essentiel, toujours accompagné d'acides inconnus et quelquefois d'acide citrique.

— La *Vigne* nous a davantage occupé.

a) Nous avons également déterminé l'évolution de l'acidité et la nature des différents acides. Nous avons montré que : l'acidité des feuilles est constituée en grande partie par de l'acide tartrique et de l'acide malique, accompagnés, avant la maturité du raisin, de petites quantités d'acides inconnus. L'acidité du fruit augmente jusqu'à la véraison, puis diminue jusqu'à la maturité. Alors que l'acide tartrique varie peu, l'acide malique est en grande partie brûlé par la respiration. Nous n'avons que rarement trouvé de l'acide citrique dans la vigne.

b) Nous avons ensuite étudié l'action du *Botrytis cinerea* sur l'évolution des acides organiques. Nous avons montré que l'acidité, en majeure partie constituée d'acide tartrique quelquefois accompagné de faibles quantités d'acide malique, est à peu près constante lorsqu'on la rapporte à un certain poids de baies ; la quantité d'acide brûlé est compensée par la concentration qui résulte de la perte en eau des baies. Nous avons montré, par contre, qu'il se produit une neutralisation partielle de ces acides et un enrichissement en sucres.

c) Par contre, l'étude de l'action des *Penicillum* nous a montré que l'évolution des acides était pareille à celle de la pourriture noble, mais qu'il ne se produisait pas de neutralisation des acides, ni d'enrichissement en sucres.

Ces méthodes peuvent être également appliquées à l'étude des liquides de fermentation provenant des jus sucrés. Nous avons ainsi étudié quelques vins nouveaux et nous avons montré que ces vins renfermaient toujours des quantités importantes d'acide tartrique et de petites quantités de substances acides, mal connues, produits secondaires de la fermentation alcoolique et produits des fermentations secondaires.

L'acide malique se retrouve dans quelques vins à des taux importants, mais quelquefois il ne doit y exister qu'à l'état de traces, s'il n'a complètement disparu. L'acide citrique n'est pas important. L'acide lactique n'est pas très répandu dans les vins jeunes. L'acide succinique, par contre, se retrouve le plus souvent en faibles quantités.

BIBLIOGRAPHIE

1. Peynaud, Thèse Ing. Docteur, Bordeaux, 1946.
2. Génevois & Peynaud, *Rev. Hort.*, 1947, **30,** 295-298; *Rev. Hort.*, 1947, **30,** 317-318.
3. Gerber, Thèse Sc. nat., Paris, 1897.
4. Truchon & Martin Claude, *Ann. Chim. Anal.*, 1901, **6,** 85.
5. Chauvin, Joulin & Canu, *Mon. Scient.*, 1908, **69,** 449.
6. Muttelet, *Ann. Fals. Fraudes*, 1909, p. 383; *Ann. Fals. Fraudes*, 1922, **15,** 453.
7. Kunz & Adam, *Z. Untersuch. Nhar. Genussm.*, 1909, **17,** 584.
8. Demoussy, *C. R. Ac. Sc.*, 1915, **161,** 443-445.
9. Baragiola, *Landw. Jahrb. d. Schweiz.*, 1916, **30,** 441-454.
10. Baragiola & Kleber, *Landw. Jahrb. d. Schweiz.*, 1917, **31,** 303-314.
11. Magness, *Journ. agric. Res.*, 1920, **19,** 473-500.
12. Biguelow & Dumbar, *Journ. ind. eng. Chem.*, 1917, **9,** 762-767.
13. Magness & Diehl, *Journ. agric. Res.*, 1924, **27,** 1-38.
14. Biguelow, Gore & Howard, *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1905, **27,** 915-922.
15. Brown, *Penn. Dep. Agr.*, 1899, bull. 58.
16. Fremy, *Ann. Chim. et Phys.*, 1848, **24,** 1-58.
17. Couverchel, *Ann. Chim. et Phys.*, 1831, 147-190.
18. Archold, *Ann. Bot.*, 1925, **39,** 97-107; *Ann. Bot.*, 1932, **46,** 407-459.
19. Girard & Lindet, *Ann. Sc. agron.*, 1899, s. 2, 2-179.
20. Nelson, *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1925, **47,** 568-572; *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1925, **47,** 1177-1179.
21. Franzen & Helwert, *Zeits. Physiol. Chem.*, 1923, **27,** 14.
22. Warcollier, Cidrerie, Paris, 3e édit., 1928, p. 412.
23. Niethammer, *Planta*, 1931, **12,** 399.
24. Gatet, Thèse Sc. Nat., Bordeaux, 1940.
25. Tavernier & Jacquin, *C. R. Ac. Sc.*, 1947, **225,** 1373; *C. R. Ac. Sc.*, 1948, **226,** 1393.
26. Winton, The analysis of Foods, New-York (Wiley), 1945, 999 p.
27. Lavollay & Patron, *Ann. Nutrition et alim.*, 1947, **1,** 315.
28. Czapeck, *Biochemie der Pflanzen*, 3 vol., Iena, 1913-1921.

29. Semichon & Flanzy, *Rev. vit.*, 1933, **79,** 197-199.
30. Isherwood, *Biochem. J.*, 1946, **40,** 688-695.
31. Bulen, Wamer & Burrel, Separation of organic acids from plants tissus. *Anal. Chem. U. S. A.*, 1952.
32. Lugg & Overell, *Nature*, 1947, **160,** 187.
33. Cheftel, Munier & Machebœuf, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1951, **33,** 840.
34. Polson, *Biochem. et Biophys. Acta*, 1950, **33,** 1477.
35. Gibbons & Boisonas, *Helv. Chim. Acta*, 1950, **33,** 1477.
36. Guichard, Thèse Sc. nat., Bordeaux, 1953; *Rev. Gén. Bot.*, 1954, **61,** 16; *Rev. Gén. Bot.*, 1954, **61,** 96.
37. Malpress & Morisson, *Nature*, 1949, **164,** 953.
38. Krebbs, The intermediary stages in the biological oxidation of carbohydrate. *Advances in Enzymol.*, 1943, **3,** 191-252.
39. Mc Nair, The sequence and climatic distribution of some plant acids. *Amer. J. Bot.*, 1936, **23,** 629-634.
40. Blarez, Denigès & Gayon, *Ann. Fals. Fraudes*, 1914, p. 9.
41. Hanes & Isherwood, *Nature*, 1949, **163,** 177; *Nature*, 1949, **164,** 1107.
42. Benson, Bassham, Calvin, Goodale, Haas & Stepka, 116 th meeting of Am. Chem. Soc. Atlantic City, 1949. *J. Am. Chem. Soc.*, 1950, **72,** 1710.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 1

Historique 4

Technique chromatographique de caractérisation et de dosage des acides organiques en solutions pures 11

Méthode de purification des extraits végétaux en vue d'une étude chromatographique de leurs acides organiques solubles 20

Généralités 27

Méthodes utilisées 30

Etude du Fraisier *(Fragaria vesca)* 32
Groseillier a grappes *(Ribes rubrum)* 37
Cerisier *(Cerasus)* 42
l'Abricotier *(Armeniaca vulgaris)* 47
des Pêchers *(Amygdalus persica)* 51
du Prunier *(Prunus domestica)* 56
Poirier *(Pyrus communis)* 60
de la Vigne *(Vitis vinifera)* 65
Evolution des feuilles et des fruits au cours de la maturation 66
Evolution des acides organiques du raisin sous l'action du *Botrytis cinerea* 74
Evolution des acides organiques du raisin sous l'action des *Penicillum* 77
L'acide citrique de la Vigne 79
Acides organiques des vins nouveaux 80

Conclusions générales 83

Bibliographie 87

Bordeaux. — Impr. E. Drouillard, 3, place de la Victoire.

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

LES JUS DE FRUITS

ROLE DANS L'ALIMENTATION ET LA THÉRAPEUTIQUE

Vu :
Pour le Doyen :
L'Assesseur,
R. SIGALAS.

Vu, bon à imprimer :
Le Président,
G. VITTE.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 20 Janvier 1954
Le Recteur,
E. DELAGE.